

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS



RESPUESTA TISULAR A MATERIALES DE RELLENO. ESTUDIO EXPERIMENTAL

TESIS DOCTORAL

Sergio Fernández Cossío

Santiago de Compostela, 2007

Dña. M^a Teresa Castaño Oreja, Profesora Titular de Anatomía (Dpto. de Ciencias Morfológicas) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela

HACE CONSTAR:

Que D. SERGIO FERNÁNDEZ COSSÍO, ha realizado bajo mi dirección el trabajo titulado “**RESPUESTA TISULAR A MATERIALES DE RELLENO. ESTUDIO EXPERIMENTAL**”, y que dicho trabajo reúne todas las condiciones necesarias para ser defendido ante la comisión correspondiente y optar al grado de DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA.

Y para que así conste a los efectos oportunos, lo firmo en Santiago de Compostela a diecinueve de enero de 2007

Fdo.: Prof. M^a Teresa Castaño Oreja

Fdo.: D. Sergio Fernández Cossío

A mis abuelos, el mejor recuerdo de mi vida,
por todo su cariño y confianza.

A mi Padre, mi mejor aliado,
para que disfrutemos de todos
los pequeños y grandes proyectos.

A mi Madre, por entender la vida
y por todo lo que la hace diferente.

A Lucía, mi alegre compañera de piso,
para que siempre sigamos unidos.

A Paula, mi hermana mayor,
por el pasito que da todos los días.

A Maite, por su entusiasmo
y por enseñarme el camino.

A Bea, por su cariño, su ayuda,
y por tantas cosas buenas que me inspira.

“Que al mal de quien la causa no se sabe,
Milagro es acertar la medicina.”

El ingenioso hidalgo Don Quijote de la Mancha.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	5
I.1.- LOS MATERIALES DE RELLENO EN CIRUGÍA	7
I.2.- LOS MATERIALES DE RELLENO EN EL REJUVENECIMIENTO FACIAL.....	11
I.3.- CARACTERÍSTICAS DE LOS MATERIALES DE RELLENO.....	14
I.4.- CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES DE RELLENO	17
I.5.- PROPIEDADES DE LOS MATERIALES ORGÁNICOS	22
I.6.- PROPIEDADES DE LOS MATERIALES SINTÉTICOS Y SEMISINTÉTICOS	23
I.7.- EFECTOS SECUNDARIOS DE LOS MATERIALES DE RELLENO	25
I.8.- HISTOLOGÍA DE LOS MATERIALES DE RELLENO/ RESPUESTA TISULAR INFLAMATORIA	27
I.8.1.- <i>Inflamación y Reparación Tisular</i>	29
I.8.1.1.-Fase Inflamatoria (Inflamación Aguda)	29
I.8.1.3.-La Inflamación Crónica	33
I.8.2.- <i>Respuesta Tisular a los Materiales de Relleno</i>	35
I.8.2.1.-Factores que Determinan la Respuesta Tisular a los Materiales de Relleno	36
I.8.2.2.-Respuesta Tisular Normal a un Material de Relleno	38
I.8.2.3.-Los Macrófagos en la Respuesta Tisular a los Materiales de Relleno.....	39
I.8.2.4.-Granulomas de Cuerpo Extraño en los Materiales de Relleno.....	43
I.9.- MATERIALES DE RELLENO.....	47
I.9.1.- <i>MATERIALES DE RELLENO DE USO MÁS FRECUENTE EN PROCEDIMIENTOS ESTETICOS</i>	47
I.9.1.1.- <i>Silicona</i>	47
I.9.1.1.2.- Derivados de la silicona	49
I.9.1.1.3.- Historia	49
I.9.1.1.4.- Histología	51
I.9.1.1.5.- Efectos secundarios e histopatología	54
I.9.1.2.- <i>Colágeno</i>	57
I.9.1.2.1.- Composición química y características físicas.....	58
I.9.1.2.2.- Materiales de relleno que contienen colágeno.....	59
I.9.1.2.3.- Historia	59
I.9.1.2.4.- Histología del colágeno bovino	61
I.9.1.2.5.- Reacciones adversas al colágeno bovino	63
I.9.1.2.6.- Otros derivados del colágeno	66
I.9.1.3.- <i>Ácido Hialurónico</i>	69
I.9.1.3.1.- Composición química y características físicas.....	69
I.9.1.3.2.- Derivados del ácido hialurónico	69
I.9.1.3.3.- Historia	71
I.9.1.3.4.- Histología	71
I.9.1.3.5.- Efectos secundarios e histopatología	72

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS 99

III. MATERIAL Y MÉTODOS	105
III.1.- ANIMALES	107
III.2.- MATERIALES DE RELLENO.....	108
III.3.- PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO DE IMPLANTACIÓN	111
III.4.- OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS.....	112
III.5.- OBSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS Y CRITERIOS PARA LA OBJETIVACIÓN DE RESULTADOS.....	113
III.5.1.- <i>Análisis Cualitativo/ Histopatológico</i>	114
III.5.2.- <i>Análisis Cuantitativo/ Histomorfométrico</i>	118
III.5.3.- <i>Análisis Estadístico</i>	121
IV. RESULTADOS	123
IV.1.- GRUPOS CONTROL Y PLACEBO.....	125
IV.2.- MATERIALES DE ORIGEN BIOLÓGICO	126
IV.2.1.- <i>Agarosa</i>	126
IV.2.2.- <i>Colágeno</i>	130
IV.2.3.- <i>Grasa</i>	134
IV.2.4.- <i>Derivados del Ácido Hialurónico</i>	139
IV.3.- MATERIALES DE ORIGEN INORGANICO	146
IV.3.1.- <i>Derivados de las Poliacrilamidas</i>	146
IV.3.2.- <i>Polimetilmetacrilato</i>	155
IV.3.3.- <i>Politetrafluoroetileno (Gore-Tex)</i>	160
IV.3.4.- <i>Silicona</i>	166
IV.4.- ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:.....	172
IV.4.1.- <i>Análisis Cualitativo</i>	172
IV.4.2.- <i>Análisis Cuantitativo</i>	177
IV.4.3.- <i>Análisis Comparativo entre Materiales de Origen Orgánico y Sintético</i>	183
IV.4.4.- <i>Interpretación Clínica de los Resultados</i>	192
V. DISCUSIÓN.....	197
V.1.- MATERIALES DE ORIGEN ORGÁNICO.....	200
V.1.1.- <i>Agarosa</i>	200
V.1.2.- <i>Colágeno</i>	202
V.1.3.- <i>Grasa</i>	203
V.1.4.- <i>Derivados del Ácido Hialurónico</i>	204
V.2.- MATERIALES DE ORIGEN SINTÉTICO	206
V.2.1.- <i>Derivados de Poliacrilamidas</i>	206
V.2.2.- <i>Polimetilmetacrilato</i>	207
V.2.3.- <i>Politetrafluoroetileno (Gore-Tex)</i>	208
V.2.4.- <i>Silicona</i>	209
VI. CONCLUSIONES.....	213
VII. BIBLIOGRAFIA.....	217
VIII. TRABAJOS PUBLICADOS	245
IX. ICONOGRAFÍA	281

I. INTRODUCCIÓN

I.1.- LOS MATERIALES DE RELLENO EN CIRUGÍA

Materiales de relleno son todos aquellos productos de origen orgánico o sintético que introducidos en tejidos vivos, tienen como finalidad la corrección de defectos de volumen de partes blandas u óseas bien sean de origen congénito o adquirido.

La mayoría de las especialidades quirúrgicas utilizan estos productos con diferentes propósitos si bien, en las últimas décadas, ha sido dentro del ámbito de la Cirugía Plástica y Estética, donde los materiales de relleno han sido empleados con más frecuencia, siendo objeto de un gran número de estudios de investigación tanto clínicos como experimentales.

El término Cirugía Plástica fue empleado por primera vez por Dieffenbach en 1845, en un trabajo en el que se hacía referencia a un defecto de tejido en un labio leporino con paladar hendido, que requería técnicas especiales de cobertura mediante colgajos, injertos y moldeado de tejidos. Con los años, el problema de la cobertura adecuada para defectos cutáneos y óseos de diverso origen, ha dirigido la evolución de los colgajos, las técnicas de expansión tisular y otros procedimientos quirúrgicos.

Los materiales de relleno se han empleado para la reposición de volúmenes con fines tanto reconstructivos como estéticos.

Cuando el defecto de volumen se encuentra asociado a una pérdida cutánea, la cobertura del mismo se considera primordial, requiriéndose el empleo de procedimientos propios de la cirugía reparadora. Existen múltiples técnicas quirúrgicas para lograr este propósito entre las que se encuentran el empleo de injertos o colgajos locales, regionales o microvascularizados. En estas circunstancias, los colgajos llevan asociada a la función de cobertura cutánea la de restauración del volumen tisular perdido de la forma más anatómica posible, convirtiéndose así en materiales de relleno autólogos con vascularización autónoma. Algunos colgajos locales, de tipo mucoso o cutáneos desepitelizados, que originariamente fueron diseñados con una finalidad reconstructiva, son igualmente empleados en cirugía estética para el

aumento de volumen en labios y otras áreas faciales (Kostianovsky, 1996). Dentro del ámbito de la cirugía reparadora los materiales de relleno no autólogos, encuentran su aplicación más relevante en cirugía reconstructiva craneofacial, mediante el uso de implantes.

El primer caso documentado en el que se hace referencia a la utilización de un material con fines reconstructivos, corresponde a la implantación por Falopio en 1600 de una placa de oro cuya finalidad era reparar un defecto craneal (Fallopianus, 1600).

Si no existe pérdida de tejido cutáneo y no hay limitación funcional asociada, la falta de volumen tisular se convierte en un problema estético. Estos defectos de volumen pueden ser de origen congénito o adquirido. La causa de estos últimos puede encontrarse ligado a circunstancias variadas como procedimientos quirúrgicos o traumatismos previos, a determinadas enfermedades, o a la atrofia tisular y el efecto de la gravedad asociados al envejecimiento. Es dentro de este campo de la cirugía plástica, la cirugía estética, donde los materiales de relleno han sido objeto de mayor estudio y en el que han experimentado un mayor desarrollo.

Los tejidos vivos autólogos, primariamente vascularizados o injertados, siempre y cuando estén disponibles, son considerados como la mejor opción para la reposición de volúmenes (Burres 1994, Burres 1998). Los materiales de origen biológico siguen siendo el punto de referencia con el que se comparan todos los materiales de relleno, basándose en el principio de que las soluciones más fisiológicas tienden a dar los resultados más naturales y de mayor duración (Fagien, 2001). Sin embargo, el uso de un material autólogo con fines reconstructivos o estéticos implica, por parte del cirujano, un entrenamiento adecuado para la obtención y manejo de los tejidos y, por parte del paciente, aceptar los inconvenientes asociados a la obtención de los tejidos y los cuidados postoperatorios de la zona donante (De Vore y col., 1996; Maloney, 1998; Spira y col., 1993). Por otro lado, el inevitable grado de reabsorción y remodelado de estos materiales una vez implantados, estimula la búsqueda continua del producto considerado ideal (Maas y col., 2001).

Los materiales de relleno sintéticos pretenden ser una alternativa a la corrección de defectos de volumen, evitando los inconvenientes asociados a procedimientos más traumáticos. El coste para el sistema sanitario y las dificultades de programación pueden ser reducidos ampliamente en comparación con técnicas realizadas en el quirófano. Otro factor importante a considerar en el desarrollo de este campo de la cirugía estética, es el aumento de la aceptación social del empleo de materiales de relleno como técnica de rejuvenecimiento.

La compleja interacción entre un determinado implante y el organismo (Costantino, 1994), con los efectos secundarios que se derivan ella, ha hecho que la corrección de defectos de volumen haya sido históricamente decepcionante (Eppley y col., 1994), convirtiendo la corrección de volúmenes tisulares en uno de los grandes desafíos para la cirugía plástica (Ersek, 1991).

En 1856 se describió la utilización de cartílago de conejo con fines reconstructivos en una rinoplastia (Argumosa, 1856). En 1893, Neuber implantó fragmentos de grasa del brazo para corregir defectos de la cara (Neuber, 1893). En 1899 Gersuny realizó inyecciones de parafina en el escroto de un paciente con anorquidia, siendo el primer producto de origen sintético utilizado como material de relleno (Gersuny, 1903); posteriormente se empleó en otros tejidos, pero la alta incidencia de granulomas hizo que fuese abandonado su uso (Homicz y col., 2004).

Entre las primeras sustancias empleadas se incluyen también la cera, aceites de diverso origen (Prime, 1909), el marfil (Vilar-Sancho, 1987), la mica (Chao y col., 1940) o la lanolina (Hinderer y col., 1990). Sin embargo la gran mayoría de estos productos fueron rechazados por las reacciones que inducían en los lugares de implantación y por los efectos secundarios a distancia y en otros tejidos.

La era moderna de los materiales de relleno comienza con el uso de silicona líquida en 1950. En la década de 1970, el colágeno bovino reconstituido estuvo disponible en forma inyectable pero su duración era limitada y se buscaron materiales más duraderos. En las dos últimas décadas

han aparecido materiales de implantación tanto orgánicos como sintéticos cada vez más efectivos (Ersek y col., 1991).

El efecto relleno con estas sustancias puede fracasar debido a degradación o reabsorción del material, reacciones titulares adversas o migración del producto, entre otros. Existe pues, un notable grado de confusión en lo que se refiere a qué agente funciona mejor en una determinada situación y las causas de los fallos de muchos agentes usados en el pasado. El desarrollo de un material para la reposición de volúmenes tisulares sin el riesgo de rechazo inmunológico, ha estimulado la investigación y el desarrollo de nuevos productos dentro del campo de la Cirugía Plástica y Estética (Apesos y col., 2000). La aparición de nuevos materiales de relleno se ha visto estimulada igualmente por el creciente empleo de los mismos en otras especialidades médicas y quirúrgicas.

Aplicaciones de los materiales de relleno:

- a) Cicatrices cutáneas postraumáticas o postquirúrgicas.
- b) Cicatrices cutáneas dérmicas por acné o viruela.
- c) Enfermedades asociadas a atrofia de partes blandas u óseas.
- d) Escleroderma (Lemperle y col., 2003).
- e) Enfermedad de Romberg.
- f) Lipodistrofia asociada al SIDA (Amard, 2001).
- g) Parálisis unilateral de cuerdas vocales (Chan y col., 1998).
- h) Reflujo por incompetencia del esfínter esofágico inferior (Feretis y col., 2001).
- i) Reconstrucción de órbitas anoftálmicas o en enoftalmos. (Cahill y col., 1989).
- j) Tratamiento de pacientes con incontinencia urinaria (Bent y col., 2001; Robertson y col., 1996; Shortliffe y col., 1989; Jailwala y col., 2001) o fecal (Geile y col., 2001).
- k) Tratamiento de arrugas cutáneas faciales.
- l) Aumento facial de tejidos blandos (labios) y óseos (mentón, pómulos).

I.2.- LOS MATERIALES DE RELLENO EN EL REJUVENECIMIENTO FACIAL

En Cirugía Plástica y Estética la inyección de materiales de relleno se realiza fundamentalmente con fines cosméticos y de rejuvenecimiento, mayoritariamente en mujeres de mediana edad, que desean corregir las arrugas o pliegues de la región perioral, periocular y mejillas, así como para aumentar el volumen en los labios y la región malar (Lombardi y col., 2004). En el pasado se intentaba lograr el rejuvenecimiento facial mediante la aplicación exclusiva de técnicas que corregían la laxitud facial, poniéndose de moda procedimientos quirúrgicos cada vez más agresivos que manejaban los tejidos blandos de diversas maneras. Sin embargo, y de forma simultánea, los esfuerzos se enfocaron hacia la obtención de materiales de relleno de carácter temporal que permitiesen restaurar volúmenes, así como lograr la corrección de pequeñas arrugas y pliegues de expresión (Graivier y col., 2006).

El proceso de envejecimiento facial representa una combinación de factores intrínsecos como la atrofia de los tejidos y de factores extrínsecos como la radiación solar o la gravedad.

A nivel histológico la atrofia cutánea asociada a la edad se caracteriza por el adelgazamiento de la unión dermo-epidérmica, la disminución en el número de melanocitos y células de Langerhans, la reducción en la cantidad de glucosaminoglicanos y la disminución de la cantidad total de colágeno fundamentalmente de la fracción III (Freeman, 1971; Guerrero-Santos, 1978; Gilchrest, 1982; Feuske y col., 1988). El deterioro histológico presenta correlación con los hallazgos clínicos:

- a) Adelgazamiento de la piel
- b) Disminución de la resistencia ante las fuerzas de tensión
- c) Menor elasticidad
- d) Cambios inmunológicos
- e) Mayor susceptibilidad a la luz ultravioleta y a la aparición de lesiones cutáneas malignas

Algunos autores no consideran el adelgazamiento cutáneo como un factor determinante en el envejecimiento facial, ya que, aunque con la edad el grosor de la piel disminuye en las extremidades, la piel de la cara experimenta un aumento de espesor (Pellacani y col., 1999). Las causas desencadenantes de la aparición de arrugas y pliegues estarían más íntimamente ligadas a la atrofia del componente adiposo y muscular, así como a la pérdida de elasticidad de la dermis, la mímica y la gravedad.

El efecto de la gravedad sobre una piel progresivamente más delgada acelera el proceso de envejecimiento cutáneo, haciendo que ésta permanezca suspendida en los puntos de unión más fuertes a planos profundos. Con el tiempo las estructuras profundas de la piel como la grasa, el músculo y el hueso, también sufren atrofia, acentuando el aspecto de envejecimiento de la piel que los recubre. El proceso natural de envejecimiento se ve muchas veces exacerbado por el daño solar que produce, entre otros efectos, displasia epidérmica y elastosis dérmica (Mass y col., 1993).

Clínicamente los cambios superficiales empiezan a evidenciarse a la edad de treinta años con la presencia de un exceso de piel en el párpado superior y formación de las denominadas patas de gallo.

A la edad de cuarenta años se hacen más pronunciados los pliegues nasolabiales y se hacen visibles las arrugas en la región glabelar y frente. Generalmente a la edad de cincuenta años aparecen arrugas en el cuello, la línea mandibular pierde definición y se produce un descenso de la punta nasal. Alrededor de la boca surgen arrugas verticales con reducción de la altura del bermellón, y la difuminación del arco de Cupido (Jacovella y col., 2006).

A los sesenta años la progresión de la atrofia cutánea y subcutánea hacen que prácticamente todas las personas presenten arrugas cutáneas y ptosis tisular.

Entre los procedimientos quirúrgicos de rejuvenecimiento facial se encuentran una serie de técnicas que tienen como objetivo restaurar la apariencia previa a los cambios debidos al adelgazamiento y aumento de flacidez de la piel o de los tejidos profundos (fascias y músculos) (Tabla 1.1). La pérdida de grasa del tejido subcutáneo, la menor proyección del labio, la

migración de los tejidos blandos de la cara sobre la plataforma perioral y la acción recurrente de la musculatura facial determinan los signos clásicos del envejecimiento facial (Maas y col., 2001). Por todo lo anterior, cada vez se da más valor en la cirugía estética facial a la corrección de los defectos de volumen asociados a la atrofia tisular secundaria al envejecimiento; esta pérdida de volumen produce modificaciones en la posición de los tejidos blandos y defectos en el contorno facial.

Tabla 1.1.- Técnicas quirúrgicas de rejuvenecimiento facial.

1-Estiramiento facial

- 1.1- Estiramiento facial subcutáneo.
- 1.2- Plastia facial del sistema músculo aponeurótico superficial (S.M.A.S.) y platisma.

2-Blefaroplastia estética

Corrección quirúrgica de la lipodistrofia orbitaria y exceso de piel a nivel palpebral asociados a la edad.

3-Técnicas complementarias de rejuvenecimiento facial

- 3.1- Laserterapia (CO2, Erbio).
- 3.2- Peeling químico.
- 3.3- Dermabrasión.
- 3.4- Técnicas de reposición de volumen: rellenos e implantes.
- 3.5- Toxina Botulínica.

Las técnicas de estiramiento facial tienen como objetivo el reposicionamiento de los tejidos faciales, logrando con ello la corrección de la flacidez cutánea y los pliegues cutáneos más evidentes. Las técnicas complementarias tienen su indicación tanto en el aumento de los tejidos subcutáneos de la cara, bien sean por deficiencias congénitas, defectos traumáticos o enfermedades dermatológicas, como en el tratamiento de las arrugas cutáneas faciales menos marcadas. Este tipo de procedimientos se ha

convertido en los últimos años en uno de los procedimientos más realizados dentro de la cirugía estética (Saray, 2003).

El tipo de arruga, dinámica o estática, es uno de los factores más importantes a considerar a la hora indicar un procedimiento u otro. Las arrugas dinámicas están causadas por la acción muscular mientras que las estáticas están causadas por fuentes exógenas como el tabaco, la gravedad y el Sol (Klein, 2001). Las arrugas estáticas responden bien a los materiales de relleno, mientras que las arrugas dinámicas de la cara son tratadas con toxina botulínica. Con respecto a su localización se considera que, en general, las arrugas de la región periorbitaria y glabellar pueden ser suavizadas con la utilización de toxina botulínica; sin embargo cuando se ha perdido la grasa dérmica o se produce un descenso de los tejidos, como en el caso de las arrugas periorales o el pliegue nasogeniano, suele ser necesario un material de relleno que permita disminuir la profundidad del pliegue. Asimismo, aunque las arrugas superficiales de la región periorbitaria y perioral pueden ser tratadas mediante peeling químico o dermabrasión respectivamente, las arrugas más profundas y los pliegues pueden requerir materiales de relleno para la reposición del volumen dérmico (Broder y col., 2006).

I.3.- CARACTERÍSTICAS DE LOS MATERIALES DE RELLENO

La función de un material de relleno es la de restaurar o modificar volúmenes tisulares; sin embargo, la aparición de efectos secundarios resultantes de la reacción del organismo a un material extraño, y la búsqueda de resultados que se adapten a las exigencias propias de una cirugía cosmética, han hecho que estos productos deban de cumplir unas características que los hagan apropiados para su uso como materiales de relleno (Tabla 1.2).

Tabla 1.2.- Características del material de relleno ideal

1. Biocompatible
2. No antigénico
3. No pirogénico
4. No tóxico
5. No carcinogénico
6. No reabsorbible
7. Fácil manejo
8. Estable tras la inyección
9. No migra
10. Sustitución progresiva por tejido propio
11. Extracción fácil si fuera preciso
12. Aporta un aspecto natural
13. Coste razonable

Un material de relleno ha de resultar una sustancia segura para el organismo, por lo que debe de ser biocompatible, no antigénico, no pirogénico, no tóxico y no carcinogénico. El implante debe de ser inerte sin ser degradado en productos derivados potencialmente peligrosos a lo largo de la vida de un paciente joven (Boyce y col., 1992).

La biocompatibilidad se considera la característica principal que debe de cumplir un producto para ser empleado como material de relleno (Jansen y col., 1994). El significado del término biocompatibilidad tiene una doble vertiente, clínica e histológica. Desde el punto de vista clínico, un implante se considera biocompatible siempre que cumpla sus funciones como material de relleno durante toda la vida del paciente sin producir efectos secundarios que contraindiquen su uso. Desde el punto de vista histológico, la biocompatibilidad ha sido definida de forma clásica como la ausencia de respuesta tisular o respuesta tisular mínima de un tejido a un material de relleno (Butler y col., 1997), lo que equivale a decir que dicho material es total o casi totalmente inerte. Sin embargo, de acuerdo con la definición moderna de biocompatibilidad, un material biocompatible no es necesariamente inerte, pudiendo inducir una reacción tisular “benigna”, convirtiendo al material en bioactivo (Jeyanthi y col., 1990). De hecho, la sustitución de un producto por tejido propio del organismo en el que se implanta, es considerada por algunos autores como una reacción deseada ante un material de relleno (Elson, 1995; Elson, 1998; Alster y col., 2000).

Una vez introducido en los tejidos, el material de relleno ideal es un producto estable, que no es reabsorbido con el paso del tiempo y que no sufre migración dentro de los tejidos. Debe de aportar además un aspecto natural, sin alterar el aspecto estético, funcional o la consistencia de los tejidos en los que se implanta (Elson, 1995; Pollack, 1990; Alster y col., 2000).

La duración de la corrección con un material de relleno depende del producto implantado, la técnica de implantación, el tipo de defecto y el stress mecánico en la zona tratada.

El movimiento de los implantes es considerado como un factor primario determinante de la supervivencia del implante y de la naturaleza de la respuesta del tejido huésped frente al mismo (Mass y col., 1990). Por lo tanto, algunos autores afirman que el material de relleno ideal debería de integrarse con los tejidos adyacentes para asegurar la fijación del implante (Brown y col., 1979).

La movilidad de los tejidos adyacentes es la que determina que la duración de estas sustancias sea mayor cuando se emplean para corregir arrugas estáticas y que se reabsorban con más rapidez al tratar las de tipo dinámico. El tipo de tejido también influye en su duración; en los de tipo cicatricial los materiales de relleno presentan una mayor resistencia a la reabsorción en comparación con los tejidos no cicatriciales (Klein, 2001).

Existen trabajos en los que se afirma que la utilización de materiales de relleno debería de ser un proceso reversible, por lo que estos productos no tendrían que ser necesariamente permanentes (Ashinoff, 2000). También se considera apropiada la posibilidad de que pudiesen ser extraídos con facilidad si fuese necesario (Boyce y col., 1992). Esta última opinión contradice la idea propuesta en algunos trabajos comentados previamente, según la cual, la formación de tejido nuevo en el interior de los implantes sería un efecto deseable, ya que ésta haría imposible la explantación de los mismos.

Una de las características más importantes de un buen material de relleno sería la disponibilidad de grandes cantidades sin crear un defecto grande de la zona donante (si se trata de un producto autólogo) (Boyce y col., 1992), que fuese fácil de obtener y a un coste razonable.

I.4.- CLASIFICACIÓN DE LOS MATERIALES DE RELLENO

Los criterios en que puede basarse la clasificación de los materiales de relleno son múltiples, pero sin duda el más representativo de todos ellos es el que los agrupa según su origen. En virtud de esta característica se distinguen materiales de origen biológico u orgánico y de origen sintético. Los primeros, a diferencia de los segundos, son materiales de origen animal, vivos o que alguna vez estuvieron vivos. Algunos autores emplean indistintamente el término sintético o aloplástico (Ellis y col., 2001).

Existen discrepancias a la hora de clasificar algunos materiales de relleno, como sucede con los derivados modificados del ácido hialurónico de aparición más reciente (Restylane, Perlane,...), obtenidos por fermentación bacteriana mediante la denominada técnica NASHA (Non-Animal Stabilized Hialuronic Acid). Estos productos son considerados por algunos autores como de origen biológico incluyéndolos dentro del grupo de los materiales heterólogos o xenoinjertos (Sclafani y col., 2000; Murray y col., 2005; Homicz y col., 2004), mientras que otros los consideran un material sintético (Ellis y col., 2001). Por último estos derivados son denominados en ocasiones materiales “biosintéticos” o “semisintéticos” (Hotta, 2004; Matarasso y col., 2006).

A) Según su Naturaleza:

1. *Productos de origen orgánico/ biológicos:*

Se pueden distinguir tres subgrupos dentro de los materiales biológicos según su procedencia:

- Materiales Autólogos: obtenidos del mismo organismo en el que se implantan.
- Materiales Homólogos o Alogénicos: obtenidos a partir de otro individuo pero de la misma especie.
- Materiales Heterólogos o Xenoinjertos: de especies distintas.

1.1. Materiales Autólogos:

- dermis
- duramadre
- fascia
- grasa
- cartílago
- colágeno autólogo (Cosmoderm®, Cosmoplast®, Isolagen®, Autologen®)
- hueso
- músculo
- otros: uña, pelo...

1.2. Materiales Homólogos/Alogénicos:

- colágeno (Dermalogen®, Alloderm®, Facian®, Cymetra®)
- cartílago irradiado
- hueso desmineralizado
- duramadre liofilizada

1.3. Materiales Heterólogos/Xenoinjertos:

- colágeno bovino (Zyderm®, Zyplast®, Resoplast®, Koken atelocollagen®, Endoplast 50®)
- colágeno porcino (Permacol®, Fibroquel®, Evolence®, Fibrel®)
- hueso
- cartílago
- grasa
- derivados del Ácido Hialurónico (Restylane®, Perlane®, Hyaluderm®, Hylan B®, Hylaform®, Juvederm®, Captite®, Rofilan Hylan Gel®, AcHyal®, Matridur®, Hyal-System®, Puragen®)

2. Productos de origen sintético/ alopásticos:

- 2.1. Derivados de las Poliacrilamidas (Aquamid®, Bio-Alcamid®, Bioformacryl®, Interfall®, Outline®, Amazing Gel®, Argiform®)
- 2.2. Derivados del Politetrafluoroetileno (Teflón®, Proplast® Gore-Tex®)
- 2.3. Siliconas (Silikon 1000®, SilSkin 1000 cS®, PMS 350®, Adatosil 5000®)
- 2.4. Implantes Metálicos: oro, titanio, plata, platino...
- 2.5. Materiales de tipo bifásico: compuestos formados por la mezcla de dos sustancias, una de las cuales es en ocasiones de origen orgánico (por ej: colágeno) que se emplea como medio de suspensión del componente sintético.
 - 2.5.1. Colágeno-Polimetilmetacrilato (Artecoll®, Arteplast®, Metacril®, Aphrodite Gold®, Bioplasty®, Precise®)
 - 2.5.2. Acido Hialurónico- Polihidroxietilmetacrilato/Etilmetacrilato (DermaLive®, DermaDeep®)
 - 2.5.3. Acido Hialurónico- Dextrano (Matridex®, Reviderm intra®)
 - 2.5.4. Polivinilo- Poliacrilamida (Evolution®)
 - 2.5.5. Polivinilo-Alcohol (Bion-Blue®)
 - 2.5.6. Silicona-Polivinilpirrolidona (Bioplastique®)
 - 2.5.7. Acido Poliláctico- Manitol/carboximetilcelulosa (New-Fill®, Sculptra®)
 - 2.5.8. Hidroxiapatita cálcica – Carboximetilcelulosa (Radiesse®)

B) Según su Duración

Como se apuntó en el apartado anterior, la duración del implante es una de las características más importantes de los material de relleno, empleándose como criterio de clasificación por algunos autores (Lombardi y col., 2004). Entre las diferencias existentes entre los materiales de origen biológico y sintético cabe destacar que los primeros tienden a sufrir una marcada reabsorción con el tiempo, mientras que los segundos son permanentes o semipermanentes. La falta de corrección a largo plazo con el empleo de materiales de origen orgánico ha sido una de las causas principales que han llevado a la búsqueda y

estudio de los productos aloplásticos (Homicz y col., 2004). Según su duración los materiales de relleno se pueden clasificar en (Tabla 1.3):

1. Biodegradables de carácter temporal: duración máxima de 4 a 6 meses.
2. Biodegradables de carácter semipermanente: persisten aproximadamente 18 meses, pero inducen la producción y sustitución de volumen por colágeno neoformado.
3. No Biodegradables o permanentes: que no pueden ser eliminados.

Tabla 1.3.- Clasificación de los Materiales de Relleno según su Duración.

TEMPORALES	SEMIPERMANENTES	PERMANENTES
Colágeno Bovino Colágeno Humano Colágeno Porcino Ácido Hialurónico- Aviar Ácido Hialurónico- Bacteriano	Hidroxiapatita Cálcica Dextranos Acido Poliláctico Alcohol Polivinílico Hidroxietilmetacrilato Fibroblatos humanos cultivados Grasa	Polimetilmetacrilato Poliacrilamidas Silicona Politetrafluoroetileno

C) Según Naturaleza y Duración:

Algunas clasificaciones distinguen dentro de las dos grandes categorías de implantes (biológicos y sintéticos) la duración de los mismos (Ellis y col., 2001).

1. **Materiales de origen orgánico:**

1.1.- Autólogos:

- Temporales: grasa autóloga inyectada*
- Larga duración: grasa autóloga inyectada
- Permanentes: grasa autóloga inyectada

1.2.- Homólogos: Larga duración...Dermalogen, Fascian, Cymetra

1.3.- Heterólogos: Temporales... Zyderm/Zyplast, Fibrel, Hylaform

2. Materiales Aloplásticos:

2.1.- Temporales... Restylane/Perlane

2.2.- Permanentes... Artecoll, Silicona líquida, Gore-Tex

* según esta clasificación la grasa autóloga inyectada tiene distinto comportamiento dependiendo de la zona donante y receptora, así como de la cantidad implantada.

D) Otras Clasificaciones:

1. Según la técnica de implantación requerida hay productos inyectables y otros que precisan de técnicas quirúrgicas para su implantación.
2. Dentro de los materiales de relleno se pueden distinguir los materiales de relleno blandos y duros (Goode, 1999). Un material de relleno “blando” se define como un material para la corrección de arrugas faciales y depresiones más profundas, que puede ser inyectado o implantado quirúrgicamente y permanece blando y flexible después de la implantación.
3. La FDA (Food and Drug Administration), organismo encargado de la legalización de estos productos en Estados Unidos clasifica los materiales de relleno considerando el mecanismo de acción, el carácter biodegradable y la duración en los tejidos (Tabla 1.4).

Tabla 1.4.- Clasificación de los Materiales de Relleno según la FDA.

PRODUCTO	INGREDIENTE ACTIVO	MECANISMO DE ACCIÓN	BIODEGRADABLE	DURACIÓN
Zyderm	Colágeno	Aporta Volumen	Sí	4 meses
Restylane	Ácido Hialurónico	Aporta Volumen	Sí	6 meses
Artefill*	PMMA	Estimulador tisular	No	Permanente
Silikon 1000	Silicona	Aporta Volumen	No	Permanente
Radiesse	Apatita Cálrica	Aporta Volumen	Sí	1 año
Sculptra	Ácido Poliláctico	Estimulador tisular	Sí	1 año
Grasa autóloga	Grasa	Aporta Volumen	Sí/No	Impredecible

* Actualmente no está autorizado su uso por la FDA

I.5.- PROPIEDADES DE LOS MATERIALES ORGÁNICOS

De entre las sustancias empleadas para la modificación de volúmenes, los materiales de origen biológico siguen siendo los productos de referencia entre los materiales de relleno, considerándose dentro de ellos a los tejidos autólogos como la mejor opción para la corrección de deformidades (Burres, 1994; Burres, 1998).

- Tejidos Autógenos (Autoinjertos):

Ventajas:

1. No son rechazados y no inducen reacción de tipo inmunológico.
2. Si se vascularizan no son sustituidos por otros tejidos.
3. Un índice de infecciones muy bajo.
4. Raramente sufre exposición.

Inconvenientes:

1. Se requiere una zona donante con morbilidad asociada.
2. Cantidad limitada.
3. No siempre se pueden adaptar a la zona a reconstruir y en ocasiones cambian de forma con el tiempo.
4. Sufren un grado de reabsorción variable.

- Homoinjertos:

Ventajas:

1. No hay límite de cantidad.
2. Pueden ser almacenados por períodos amplios de tiempo.
3. Reactividad inmunológica limitada.

Inconvenientes:

1. No pueden ser transferidos en forma vascularizada.
2. Riesgo de infecciones nosocomiales y transferencia de infecciones.
3. Generalmente reemplazados por mayor cantidad de tejido fibrosocicatricial que los autoinjertos.

4. Comportamiento menos predecible.
5. Mayor pérdida de volumen.

- Xenoinjertos:

Ventajas:

1. No hay límite de cantidad.
2. Pueden ser almacenados por períodos amplios de tiempo.
3. No carcinogénicos.
4. Resistentes a la infección.

Inconvenientes:

1. Mayor riesgo de respuesta inflamatoria.
2. Reacciones alérgicas o inmunes sistémicas.
3. Indicaciones limitadas.

I.6.- PROPIEDADES DE LOS MATERIALES SINTÉTICOS Y SEMISINTÉTICOS

El inevitable grado de reabsorción así como las limitaciones propias de la zona donante, inherentes a los productos de origen orgánico, han estimulado durante años la búsqueda de un material sustituto de partes blandas ideal (Robertson y col., 1996; Maas y col., 2001). En este sentido, los materiales aloplásticos han experimentado una evolución importante, aportando al campo de los materiales de relleno, una amplia variedad de sustancias de distintas composiciones y características físicas. No sólo la composición química sino también el tamaño, la forma, la estructura y carga de superficie de las partículas empleadas, adquieren especial importancia, pues determinan las reacciones tisulares del organismo frente a las mismas y por tanto su biocompatibilidad como sustancias de relleno.

Ventajas:

1. No hay límite de cantidad disponible.
2. Pueden ser almacenados por períodos amplios de tiempo.
3. Algunos pueden ser extraídos tras implantarse.
4. No precisan sobrecorrección.

Inconvenientes:

1. Requiere mayor precisión en cuanto a volumen, localización y profundidad de la implantación.
2. Comportamiento a largo plazo menos predecible.
3. Riesgo de reacciones alérgicas locales y sistémicas.
4. Riesgo de induración o granulomas.

El éxito o fracaso de un material de relleno aloplástico depende de varios factores: su composición química, bioestabilidad, forma física, propiedades mecánicas, lugar de implantación y presencia de impurezas (Hallab y col., 1995).

1. *Composición química:* En general, los implantes que están en su mayor parte compuestos de elementos químicos encontrados en el organismo son bien tolerados por los tejidos. El esqueleto está formado fundamentalmente por calcio, mientras que los tejidos blandos tienen fundamentalmente carbono y agua.

Dos de los productos aloplásticos más empleados como la silicona y el titanio están próximos al carbono y al calcio respectivamente en la tabla periódica. En la evaluación de cualquier implante nuevo, su composición química debe de ser comparada con los elementos químicos que están presentes normalmente en el organismo.

2. *Forma física:* Se ha observado que, aunque la composición química del implante parece ser de gran importancia, también lo es la forma física del mismo a la hora de determinar su biocompatibilidad (Morhenn, 2002).

- Porosidad: influye en la fijación del producto dentro del tejido implantado, en su degradación y en el riesgo de infecciones.

* Poros < 50 micras: es poco probable que se produzca crecimiento de tejido dentro del implante (Saur y col., 1974).

- * Poros entre 1-50 micras: los macrófagos no pueden acceder a su interior, y si se contaminan con bacterias no pueden ser eliminadas.
- * Poros > 50 micras: el paso de macrófagos y el crecimiento tisular es mayor. El riesgo de infección es por lo tanto menor (Merritt y col., 1979).

- Tamaño de partículas: influye en la biocompatibilidad de un material aloplástico tanto el tamaño de las partículas que constituyen el propio producto como las partículas que se puedan formar en el tiempo. Los macrófagos no pueden fagocitar partículas mayores de 60 micras de diámetro. Entre 20 y 60 micras pueden causar la muerte del macrófago con la liberación de enzimas intracelulares, que producen una respuesta inflamatoria local. Dentro de los restos que se forman, se encuentran partículas de material aloplástico que son de nuevo fagocitadas e inducen la muerte de nuevos macrófagos induciendo una repuesta inflamatoria crónica (Costantino, 1994).

Lo que hace atractivos a los materiales de relleno sintéticos es el deseo de conseguir un cambio permanente. Sin embargo la longevidad de un material de relleno no es siempre el objetivo a lograr: en casos de insatisfacción del paciente con los resultados cosméticos, la aparición de efectos secundarios o los cambios en las tendencias estéticas de la sociedad, puede estar indicada la utilización de un material de duración limitada.

I.7.- EFECTOS SECUNDARIOS DE LOS MATERIALES DE RELLENO

Desde el punto de vista clínico, los aspectos más críticos y preocupantes de un material de relleno implantado en dermis o tejido subcutáneo, atañen a la antigenicidad (aguda o retardada), al potencial de migración (que disminuye la capacidad de aumento) y a la cantidad de material degradado en el tiempo. La mayor parte de las sustancias empleadas son clínicamente inadecuadas

debido a uno o varios de estos problemas en la zona receptora (Eppley y col., 1994). Las reacciones adversas son más frecuentes en el caso de los productos permanentes (Lombardi y col., 2004).

Independientemente de los efectos secundarios asociados a cada producto en particular, existen reacciones adversas que se pueden encontrar a la hora de implantar un material de relleno.

Brown las clasifica como reacciones a corto, medio o largo plazo (Brown y col., 2003):

- *Reacciones a corto plazo:* son las más frecuentes e incluyen cambios de pigmentación, prurito, dolor, edema, equímosis, exceso de corrección o embolismo. Generalmente aparecen en los primeros dos días y desaparecen espontáneamente a los 3-7 días.

La persistencia de síntomas locales como eritema, edema, equímosis o induración del área tratada, con o sin prurito, son sugestivos de una reacción de hipersensibilidad al material inyectado (Eppley y col., 1994).

- *Reacciones a medio plazo:* son raras (0,1-0,5%). Aparecen al cabo de 2 a 12 meses. Clínicamente se manifiestan como nódulos o hinchazón, pudiendo dar lugar a fistulización, ulceración, presencia de pus o material de relleno, destrucción tisular o cicatriz. Se pueden ver en todos los materiales de relleno.

Entre las menos conocidas, descritas más recientemente por Voy y André en 2002, se incluyen atrofia grasa localizada similar a la vista en la lipodistrofia facial tras tratamientos para el VIH (Voy y col., 2002; André y col., 2002). Se han visto a los dos o tres meses tras la implantación de Restylane o New-Fill en los pliegues nasolabiales de pacientes sanos. No se ha encontrado explicación al fenómeno.

- *Reacciones a largo plazo:* en general se considera que aparecen con poca frecuencia y dentro de ellas se incluyen la migración, la degradación hacia sustancias tóxicas o inmunogénicas, las reacciones inflamatorias o granulomatosas, la formación de queloides, la despigmentación, la

embolización, la extrusión y las disestesias (Amin y col., 2004). Los granulomas se presentan al cabo de años como induraciones o nódulos dolorosos o inertes en el lugar de inyección produciendo deformación de los tejidos. Clínicamente se ha descrito la aparición de nódulos y granulomas con todos los fluidos y partículas inyectables, si bien su incidencia es baja (Requena y col., 2001). Algunos desaparecen espontáneamente, otros con inyecciones locales de esteroides y la mayor parte requieren excisión.

Las complicaciones asociadas a la implantación de los materiales de relleno, fundamentalmente las que aparecen a medio y largo plazo, son difíciles de tratar ya que simulan alteraciones de tipo inmunológico e infeccioso. Existen enfermedades infecciosas e inflamatorias como la leishmaniasis, la lepra o la tuberculosis que pueden inducir procesos inflamatorios de tipo granulomatoso en la piel; igualmente algunos procesos autoinmunes y neoplásicos se pueden presentar como reacciones inflamatorias locales, e incluso celulitis de origen infeccioso por organismos contaminadores de la piel, como las especies *Staphylococcus* y *Streptococcus*, también pueden inducir cuadros similares. Es importante descartar estos procesos mediante biopsias y tests adecuados antes de la cirugía (Maas y col., 1997).

I.8.- HISTOLOGÍA DE LOS MATERIALES DE RELLENO/ RESPUESTA TISULAR INFLAMATORIA

La biocompatibilidad, propiedad más importante de cualquier producto que se emplea como material de relleno, viene determinada por el tipo de reacción inflamatoria que provoca en el tejido receptor (Morhead y col., 1994). Algunas sustancias inducen una franca toxicidad tisular y rechazo por parte de los tejidos; en otras ocasiones son aceptadas pero producen una reacción de cuerpo extraño con encapsulación del producto por tejido fibroso. Por último, algunos materiales se integran en los tejidos con crecimiento tisular en su superficie o invasión completa por parte del tejido en el que se introducen.

La biocompatibilidad de un determinado biomaterial ha sido determinada en función de la respuesta inflamatoria aguda o crónica y la formación de cápsula fibrosa, observados en función del tiempo transcurrido tras la implantación de dicho material. La evaluación histológica de los tejidos adyacentes a los materiales implantados el método más comúnmente empleado para evaluar la biocompatibilidad del material (Anderson y col., 1984). Un material es biocompatible si las reacciones tisulares que produce no alteran su función, o la función de los tejidos u órganos del organismo en el que se implanta (del paciente/del huésped). Por consiguiente, a la hora de elaborar y utilizar una determinada sustancia como material de relleno, es esencial comprender la respuesta biológica de los tejidos a los implantes. Los biomateriales, además de no resultar tóxicos, deben de inducir una respuesta biológica compatible con la función que desempeñan (Spector y col., 1989).

Aunque los materiales de relleno se emplean desde hace más de 50 años, el conocimiento que tenemos de las respuestas celulares y tisulares a dichos materiales es aún incompleto. Se ha observado, en modelos humanos y animales, que son muchos los factores que influyen en la respuesta biológica a los materiales de relleno. Habitualmente se asocian a las características químicas del producto, el tamaño, la forma, el lugar de implantación y la duración del material. La interacción entre los tejidos y los polímeros es una situación compleja que implica interacciones entre células, y de las células con los implantes. En esta respuesta frente a los implantes están implicados una gran cantidad de sustancias quimiotácticas y factores de crecimiento que modulan las funciones celulares como son la activación, la proliferación y la producción de proteínas (Ziats y col., 1988).

La persistencia de un material en el lugar implantado depende de la respuesta celular e inmunológica y no tanto de que el producto sea permanente o biodegradable (Eppley y col., 1994) considerándose que, en general, un menor grado de inflamación resulta en un material de relleno más duradero (Krauss, 1999).

De la misma manera que sucede con cualquier material médico implantable (prótesis, placas, tornillos, etc...), la respuesta tisular a los materiales de relleno se desarrolla en el contexto de una respuesta de reparación iniciada tras la

lesión de los tejidos en el momento de la implantación. Además, todos los materiales provocan una respuesta debido a que su sola presencia altera el microambiente de las células en el tejido receptor. La influencia que dicho material tiene en los procesos de cicatrización y remodelado tisular determinan el tipo de respuesta de un tejido frente a un material de relleno.

I.8.1.- INFLAMACIÓN Y REPARACIÓN TISULAR:

Todo acto quirúrgico supone una lesión controlada que va seguida de un proceso de curación.

La inflamación es la reacción de los tejidos frente a una lesión (Coleman y col., 1974) cuya finalidad última es facilitar la curación de los tejidos mediante la destrucción o neutralización del agente nocivo, la limitación de los efectos del agente nocivo a la menor área posible y la eliminación de los tejidos muertos del área lesionada.

La implantación de un material de relleno, al igual cualquier otro producto médico, activa una serie de procesos celulares y bioquímicos que llevan a la cicatrización por segunda intención, es decir, la curación mediante la formación de tejido de granulación, en contraposición a la curación por primera intención propia de las heridas incisas.

La primera fase del proceso de curación es la fase inflamatoria, seguida de una fase reparadora en la que se sustituye el tejido muerto o dañado por tejido sano.

I.8.1.1.-FASE INFLAMATORIA (INFLAMACIÓN AGUDA):

Permite eliminar tanto las células dañadas por el traumatismo quirúrgico como los cuerpos extraños presentes en la herida. El daño tisular debido a la implantación de un material produce ruptura de vasos en dicho tejido, destrucción celular y la interacción entre las plaquetas y el colágeno.

Las lesiones precipitan la respuesta inflamatoria las sustancias químicas liberadas son quienes las median. Los mediadores se originan en el plasma, en las células y, probablemente, en los propios tejidos lesionados. Pueden dividirse en los siguientes grupos:

- Aminas vasoactivas: histaminas y serotonina.
- Proteasas plasmáticas:
 - 1) el sistema de las cininas (bradicinina y calicreína).
 - 2) el sistema del complemento (C3a; C5a; C5b-C9).
 - 3) el sistema fibrinolítico de la coagulación (fibrinopéptidos, productos de la degradación de la fibrina).
- Los metabolitos del ácido araquidónico (AA):
 - 1) vía ciclooxigenasa (endoperóxidos, prostaglandinas, tromboxano).
 - 2) vía lipooxigenasa (leucotrienos; HPETE; HETE).
- Constituyentes lisosómicos (proteasas).
- Radicales libres derivados del oxígeno.
- Factores activadores de las plaquetas.
- Citoquinas.
- Factores de crecimiento.

La inflamación produce una elevación de los niveles de proteasas y la degradación acelerada del producto (Alster, 2000).

Estos mediadores determinan los procesos asociados a la inflamación tisular entre los que se encuentran:

1. Cambios del flujo y calibre vascular.
2. Cambios en la permeabilidad vascular.
3. Exudación leucocitaria y fagocitosis.

Las plaquetas desempeñan un papel importante en esta fase inicial de la inflamación, ya que liberan fosfolípidos que activan la vía intrínseca de la coagulación; por otro lado las células dañadas de los tejidos liberan tromboplastina que activan la vía extrínseca de la coagulación. La agregación plaquetaria y otras células, liberan enzimas proteolíticas que activan la cascada del complemento.

Histológicamente esta fase se caracteriza por la presencia de neutrófilos polimorfonucleares que fagocitan fragmentos del tejido dañado y, posteriormente, macrófagos y fibroblastos. Estos macrófagos liberan sustancias que estimulan la replicación de fibroblastos en el lugar de la herida.

La inflamación aguda tiene un período de duración corto y produce la curación rápida de la lesión. Esto es lo que sucede en la mayor parte de las heridas quirúrgicas. Se caracteriza microscópicamente por la presencia de leucocitos polimorfonucleares. La inflamación aguda se encuentra presente en todos los implantes debido al trauma quirúrgico que se produce necesariamente con la implantación del material (Coleman y col., 1974).

I.8.1.2.-FASE REGENERATIVA:

La reparación generalmente implica dos procesos diferentes:

1. la *regeneración*, que es la sustitución del tejido lesionado por células del mismo tipo, a veces sin residuos de la lesión previa.
2. la *sustitución por tejido conjuntivo* que, en su estado permanente, constituye una cicatriz.

Es la fase en la que se constituye la denominada *unidad de reparación* (Spector y col., 1989). Este sistema está formado por un frente de macrófagos seguida de una línea de fibroblastos que generan una matriz de tejido conectivo con capilares y colágeno neoformado. La proliferación de fibroblastos y de células endoteliales da lugar a un tejido especializado, el *tejido de granulación*, que es el rasgo fundamental de regeneración en la inflamación. Los nuevos vasos se forman por gemación a partir de los vasos preexistentes en un proceso denominado angiogénesis o neovascularización. En el tejido de granulación en desarrollo, los fibroblastos proliferan, adquieren una mayor cantidad de retículo endoplásmico rugoso y en los cortes histológicos aparecen de mayor tamaño y volumen. Los fibroblastos son activos en la síntesis de proteoglicanos y colágeno (Spector y col., 1989).

En la respuesta inflamatoria-reparadora de los tejidos influyen factores tanto locales como sistémicos.

- Factores Locales:
 - Tipo de células que conforman el tejido.
 - Presencia de infección.
 - Aporte sanguíneo.
 - Presencia de cuerpos extraños.
- Factores Sistémicos:
 - Edad.
 - Estado nutricional.
 - Alteraciones hematológicas y metabólicas.
 - Alteraciones hormonales.

El tipo de células del tejido u órgano en el que se implanta el material influye en el tipo de reparación. Se distinguen tres tipos de células:

- a) Células lábiles: son células que proliferan toda la vida. Las células lábiles se encuentran en los epitelios superficiales de la piel, cavidad oral, vagina y cérvix, la mucosa de todos los conductos excretores de las glándulas, el epitelio columnar del tubo digestivo, útero y trompas de Falopio, y en el epitelio transicional del epitelio urinario. Las células del bazo, tejidos linfoides y órganos hematopoyéticos son también lábiles.
- b) Células estables: son células que generalmente muestran un nivel de multiplicación más bajo. Sin embargo, estas células pueden comenzar a dividirse rápidamente en respuesta a diversos estímulos y, por lo tanto, son capaces de reconstruir el tejido original. A esta categoría corresponden las células parenquimatosas de prácticamente todos los órganos glandulares. Para que sea posible la reparación ordenada tiene que estar conservada la trama de sostén o estroma de las células parenquimatosas, siendo la membrana basal la estructura más necesaria para dicho proceso.

- c) Células permanentes: a este grupo pertenecen las células nerviosas que no experimentan divisiones mitóticas en la vida postnatal y las células musculares y cardíacas.

Los tejidos compuesto de células lábiles y estables tienen capacidad de regeneración tras un traumatismo quirúrgico, mientras que los formados por células permanentes se reparan mediante la producción de una cicatriz (Robbins y col., 2003).

I.8.1.3.-LA INFLAMACIÓN CRÓNICA:

La evolución de la inflamación aguda hacia un proceso crónico, así como las características clínicas e histológicas de la inflamación crónica, descritas por Robbins (Robbins col., 2003), son aplicables igualmente al tipo de reacción que experimentan los tejidos frente a casi todos los materiales de relleno.

La inflamación aguda puede seguir una de las siguientes evoluciones:

1. Resolución completa con recuperación normal de la zona inflamada; ésta es la evolución normal cuando la lesión es leve, como en una quemadura superficial, y cuando ha habido escasa destrucción tisular.
2. Curación por cicatrización, que ocurre cuando ha habido una sustancial destrucción tisular, cuando la inflamación ha ocurrido en tejidos que no se regeneran y si ha habido una abundante exudación de fibrina.
3. Abscesificación, que se produce principalmente en las infecciones por microorganismos piógenos.
4. Progresión a la inflamación crónica.

Aunque la transición entre la inflamación aguda y crónica es a veces difícil de delimitar, la respuesta inflamatoria crónica tiene algunas características particulares que permiten su descripción separada.

Clínicamente, la inflamación crónica en distintos órganos aparece en una de las tres formas siguientes:

- a) Puede seguir a una inflamación aguda, por persistencia del estímulo o por alguna interferencia con el proceso de curación normal.
- b) Por brotes repetidos de inflamación aguda.
- c) Puede comenzar de forma insidiosa, como una respuesta prolongada de bajo grado sin episodio agudo sintomático. Esto se puede producir por:
 - infección persistente por microorganismos intracelulares que tienen una baja toxicidad pero evocan una reacción inmunitaria.
 - por la exposición prolongada a sustancias no degradables pero potencialmente tóxicas.
 - por reacciones inmunes frente a los tejidos propios que se perpetúan en el tiempo.

- Características histológicas de la inflamación crónica:

En este tipo de inflamación se suceden cuatro fases que histológicamente se caracterizan por:

1. Infiltración de células mononucleadas: principalmente macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
2. Proliferación de fibroblastos y, en muchos casos, de pequeños vasos sanguíneos.
3. Incremento del tejido conjuntivo (fibrosis).
4. Destrucción tisular.

La infiltración de monocitos y macrófagos es un componente particularmente importante de la inflamación crónica. Debido al gran número de sustancias con actividad biológica que produce, el macrófago es una figura central en la inflamación crónica. El acúmulo de macrófagos se produce por su prolongada supervivencia e inmovilización en el foco inflamatorio, especialmente evidente cuando el agente irritante es de baja virulencia como

en el caso que nos ocupa, dando lugar, en ocasiones, a la formación de granulomas.

Los granulomas son acúmulos de macrófagos modificados denominados células epitelioides. Los macrófagos modificados tienen un citoplasma abundante rosa pálido, similar al de las células epiteliales. Estas células tienen menos capacidad fagocítica que otros macrófagos pero son ricas en retículo endoplasmático, aparato de Golgi, vesículas y vacuolas. Su aspecto sugiere que son células adaptadas a la secreción extracelular más que a la fagocitosis. Otra característica del granuloma es la presencia de células gigantes de cuerpo extraño. Se forman por coalescencia y fusión de células epitelioides y raras veces por división nuclear interna. Su diámetro puede llegar a las 40-50 micras y puede contener hasta 50 núcleos. A veces estos núcleos se distribuyen en la periferia, creando un aspecto en herradura característico de la célula tipo Langhans tradicional. También se forman en presencia de grandes cantidades de material no digerible y en ocasiones se acumulan alrededor de un cuerpo extraño y sus núcleos aparecen dispersos.

Debido al gran número de sustancias con actividad biológica que produce, el macrófago es un elemento celular fundamental en la inflamación crónica. Algunos de estos productos son tóxicos para los tejidos (por ejemplo los metabolitos del oxígeno, las proteasas), otros producen la entrada de otros tipos celulares (por ejemplo los linfocitos, los fibroblastos) y otros producen proliferación fibroblástica y depósito de colágeno (por ejemplo la IL-1). Todos estos efectos contribuyen a una progresiva lesión o modificación tisular con la consiguiente alteración funcional.

I.8.2.- RESPUESTA TISULAR A LOS MATERIALES DE RELLENO

La respuesta tisular a la mayor parte de los materiales de relleno se caracteriza por la presencia de una reacción inflamatoria crónica. La implantación de un material de relleno altera el proceso normal de inflamación-reparación, al suponer la introducción de un cuerpo extraño en una herida. Por

tanto la biocompatibilidad de un biomaterial viene determinada por la respuesta de los tejidos a un cuerpo extraño, en el contexto de una modificación del proceso normal de curación de una herida (Eppley, 1994). Se puede considerar que la inflamación crónica representa una respuesta de reparación tisular no resuelta, caracterizada por la presencia de un equilibrio dinámico entre destrucción y reparación del tejido. Tanto en la respuesta tisular a los materiales de relleno, como en los procesos de reparación tisular asociados a una herida, se constituye una “*unidad de reparación*” (Spector y col., 1989). La estructura de esta unidad, como se mencionó previamente, incluye una primera línea de macrófagos, seguida por fibroblastos, y una matriz de colágeno y tejido vascularizado.

Si bien la fibrosis suele ser el producto del proceso de curación en una respuesta a cuerpo extraño (Allen, 1992), el resultado final de la inflamación crónica depende de que los factores locales y sistémicos sean favorables al agente lesivo o al proceso de curación. En *general* se considera que un menor grado de inflamación resulta en un material de relleno más duradero (Krauss, 1999).

I.8.2.1.-FACTORES QUE DETERMINAN LA RESPUESTA TISULAR A LOS MATERIALES DE RELLENO:

- Factores dependientes del tejido (Coleman y col., 1974):

1. Lugar de implantación.
2. Aporte vascular en los tejidos circundantes.
3. Movilidad de los tejidos en el lugar de implantación.
4. Estado general y nutricional.

- Factores dependientes del implante (Morhenn y col., 2002; Allen, 1992):

1. Factores químicos: se considera que los materiales más inertes son aquellos que están compuestos íntegramente por elementos próximos al carbono y al calcio en la tabla periódica, al formar estos elementos parte de la mayor parte de la porción no acuosa del organismo.

2. Factores mecánicos: el movimiento del implante con respecto a los tejidos adyacentes produce irritación celular que provoca una respuesta tisular más marcada.
3. Factores geométricos: la forma y tamaño del implante influyen en la reacción a cuerpo extraño.

- ❖ *Forma*: los geles con microesferas o fragmentos presentan una mayor producción de tejido conectivo que los geles homogéneos. Asimismo, las partículas de pared lisa tienden a ser encapsuladas por tejido fibroso limitando la respuesta tisular, mientras que las de superficie irregular inducen una mayor respuesta inflamatoria (Allen, 1992).
- ❖ *Tamaño*: la capacidad de las células de fagocitar un material depende del tamaño del mismo. Se ha observado que partículas de menos de 60 micras pueden ser digeridas por los macrófagos y transportadas a ganglios linfáticos regionales. Ninguna partícula de más de 60 micras se ha visto nunca en el interior de un macrófago ni de un nódulo linfático. Cuando las partículas alcanzan las 100 micras, sufren un proceso de encapsulamiento al cabo de aproximadamente tres semanas (Spira y col., 1993). Las que se encuentran próximas al tamaño de los macrófagos pueden ser fagocitadas, pero inducen la muerte del mismo. Cuando sucede esto último, la célula muerta libera enzimas intracelulares (citocinas) y éstas atraen a otros macrófagos. Este proceso genera un ciclo continuo en forma de respuesta inflamatoria crónica (Ersek, 1991).

4. Otros Factores:

- ❖ *Presencia de Microorganismos*: Algunos autores han sugerido la presencia de una infección inflamatoria de bajo grado como una posible causa en el desarrollo de nódulos inflamatorios asociados a la implantación de materiales de relleno. Algunas líneas bacterianas no son patógenas en circunstancias normales pero

pueden actuar como patógenos de bajo grado cuando se asocian a cuerpos extraños como el gel en un espacio cerrado (Morhead y col., 1994).

- ❖ *Carga de Superficie.*
- ❖ *Presencia de impurezas:* especialmente si están presentes en su superficie.

I.8.2.2.-RESPUESTA TISULAR NORMAL A UN MATERIAL DE RELLENO:

En condiciones normales, tras la implantación de un material de relleno se produce la activación de un proceso de reabsorción por parte del tejido huésped con las características propias de la inflamación aguda. Con el tiempo, debido a la persistencia del estímulo, se produce una inflamación crónica (Allen, 1992). En general esta transición de una respuesta inflamatoria aguda a una crónica de bajo grado, con macrófagos que se funden para formar células gigantes y el desarrollo de un proceso de fibrosis, es la misma que se ve en la cicatrización de las heridas.

La respuesta tisular a los materiales de relleno suele seguir una secuencia cronológicamente definida por los siguientes cambios histológicos (Allen, 1992):

- a las 24 horas: predominan los neutrófilos.
- a las 48 horas: predominan los monocitos.
- a los 7 días: se empiezan a formar células gigantes.
- a las 2 semanas: permanece una respuesta celular moderada.
- a las 4 semanas: los monocitos se diferencian en células epitelioides y aparecen los fibroblastos.
- a las 6 semanas: la presencia de células gigantes es notable y aumenta la formación de colágeno.
- a las 8 semanas: las células inflamatorias se dispersan y se observa colágeno denso.

- a los 6 meses: hay una respuesta celular de bajo grado y células gigantes; los fibroblastos se transforman en fibrocitos y disminuye la cantidad de colágeno denso.

I.8.2.3.-LOS MACRÓFAGOS EN LA RESPUESTA TISULAR A LOS MATERIALES DE RELLENO:

De todas las células que participan en la respuesta inflamatoria y reparadora, los macrófagos tienen especial relevancia por ser un elemento constante en todas las fases de la misma, y por el papel que desempeñan en la activación de otras células implicadas en el proceso reparador. La respuesta celular a un cuerpo extraño está controlada por los macrófagos (Eppley, 1994) y, en este sentido, numerosos estudios han demostrado la importancia de los macrófagos en la respuesta tisular a los materiales de relleno (Anderson y col., 1984; Rae, 1986), considerándose la densidad de células mononucleares como un indicador de inflamación tanto aguda como crónica (Taylor y col., 1986).

El comportamiento de los macrófagos frente a un material de relleno depende de las características de la superficie de dicha sustancia. Los materiales de superficie rugosa tienen en general un mayor número de macrófagos que los de superficie lisa (Ziats y col., 1988).

I.8.2.3.1.- QUIMIOTAXIS DE LO MACRÓFAGOS:

La aparición de macrófagos en el lugar del implante se debe inicialmente al papel que desempeñan en la respuesta de curación asociada al trauma quirúrgico. Durante el proceso de cicatrización se activan una serie de fenómenos quimiotácticos que actúan sobre los polimorfonucleares neutrófilos y los monocitos (Ziats y col., 1988).

El sistema mononuclear fagocítico está formado por una serie de células que se originan en la médula ósea a partir de un determinado tipo de células madre que evolucionan hacia monoblastos, promonocitos y monocitos. El monocito es una célula que se mantiene en circulación durante un período corto de tiempo (12-32 horas) y posteriormente migra hacia los tejidos, de forma que al cabo de 24 horas se pueden ver macrófagos adheridos a la

superficie del implante. Estos macrófagos pueden permanecer en los tejidos durante meses o años (Van Furth, 1982).

El paso de monocitos hacia los tejidos está controlado por diversos factores quimiotácticos inherentes a la respuesta inflamatoria. Estos factores intervienen en la mediación tanto de la quimiotaxis de los monocitos como en la severidad de la respuesta inflamatoria. Además, los factores quimiotácticos son necesarios para la agregación de monocitos y otras células en una herida y en las superficies de contacto entre un tejido y un material de relleno (Sitas y col., 1988).

Factores quimiotácticos de macrófagos (Anderson y col., 1984; Sitas y col., 1988; Robbins y col., 2003): actores de complemento: son una serie de glicoproteínas e inhibidores de proteínas que se activan por diversos mecanismos (complejos antígeno-anticuerpo, polisacáridos bacterianos, endotoxinas y algunas estructuras poliméricas), que inducen directamente daño en las membranas o fragmentos que median procesos inflamatorios o inmunológicos. Los fragmentos del complemento que inducen la activación de macrófagos son específicamente los factores C3b y C5a.

1. Linfocinas: mediadores solubles derivados de linfocitos.
 - MCF: Factor quimiotáctico de monocitos
 - MIF: Factor inhibidor de la migración de macrófagos; inmoviliza los macrófagos en el lugar de la herida.
 - MAF: Factor activador de los macrófagos o Interleucina 2 (IL2)
2. Fragmentos de fibronectina: un grupo de glicoproteínas derivadas de los fibroblastos. Los fragmentos de fibronectina son potentes factores quimiotácticos para los monocitos humanos.
3. Leucotrieno B₄: Es un producto estable derivado del metabolismo del ácido araquidónico.
4. Factores plaquetarios: PF₄, PDGF
5. Factores de coagulación: fibrinopéptido b, calicreína

I.8.2.3.2.- ACTIVACIÓN DE LOS MACRÓFAGOS:

Una de las primeras funciones de los macrófagos es la de fagocitar células, tejidos necrosados y microorganismos.

La activación de los macrófagos y la liberación de distintos productos por parte de los mismos, tiene gran importancia en el grado de reacción inflamatoria desencadenada y la secuencia de fenómenos que llevan a la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante.

- Productos Activadores de los Macrófagos (Anderson y col., 1984):

1. Citocinas:
 - Interleucina 2 (IL2)
 - Factor Estimulante de Colonias (CSF)
 - Linfocina Termoestable
 - Factor Agregante de Macrófagos
2. Productos de Degradación de Complemento.
3. Complejos Inmunes.
4. Interferón:
 - Tipo 1- Derivado de Macrófagos
 - Tipo 2- Derivado de Linfocitos
5. Mediadores de la Alteración de Membrana:
 - Compuestos Solubles
 - Partículas
6. Prostaglandinas.

El mediador más importante en la activación de los macrófagos es la interleucina 2 (IL2) o factor activador de los macrófagos, que es una linfocina derivada de los linfocitos T. En respuesta a ella los macrófagos producen interleucina 1 (IL1) que a su vez tiene la capacidad de estimular a otras células T a producir más IL2, estableciéndose un círculo cerrado que potencia la respuesta inflamatoria.

Bajo la influencia de las linfocinas los macrófagos muestran algunos signos de activación. Morfológicamente la célula aumenta de tamaño y el número de

gránulos en su citoplasma; asimismo la membrana plasmática se vuelve más rugosa. Los macrófagos activados aumentan su actividad biosintética y liberan diversos materiales como los lisosomas enzimáticos, interferón, pirógeno leucocítico, agentes citotóxicos y prostaglandinas.

La activación de los macrófagos por fagocitosis o endocitosis produce la liberación de un gran número de sustancias que regulan otros procesos que participan en la reparación tisular. Estas sustancias pueden inducir desde muerte celular franca a una marcada proliferación celular, influyendo también en la quimiotaxis de otros monocitos/ macrófagos o de otras células como leucocitos o fibroblastos.

- Productos de Secreción de los Macrófagos (Anderson, 1984; Robbins y col., 2003):

1. Interleucina 1y 6:

La IL-1:

- Estimula la producción de IL-2 y otros factores por parte de los linfocitos.
- Estimula las células hipotalámicas del centro de la fiebre e induce la síntesis de proteínas de fase activa.
- Además regula el crecimiento y la proliferación de fibroblastos.

2. Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α).

3. Interferón: estimula la fagocitosis por parte de los macrófagos.

4. Factores del Complemento.

5. Activador del Plasminógeno.

6. Hidrolasas Lisosomales.

7. Fibronectina.

Una vez activados, los macrófagos pueden liberar factores de crecimiento (ej: IL-1 y TNF-beta), que estimulan la proliferación y el crecimiento de fibroblastos. Esto explicaría la presencia de gran cantidad de macrófagos y células gigantes en el lugar del implante y la presencia de un tejido conectivo rico en colágeno y fibroblastos. No está claro cuál es el factor que contribuye al aumento de volumen tisular (tejido conectivo, celularidad o material), si bien se

considera que la presencia del biomaterial contribuye mayoritariamente a este efecto (Eppley y col., 1994).

Histológicamente los macrófagos se pueden distinguir en dos formas (Spector y col., 1989):

- histiocito: es una forma “fija” o adherida a las fibras del estroma tisular
- macrófago transicional, exudativo, derivado de monocito: se encuentran libres en el interior de la matriz.

Existen diferencias morfológicas entre ambos tipos de células. Los histiocitos suelen ser elongados, de contorno angulado y en ocasiones presentan prolongaciones que parecen fijar la célula en el estroma. Los macrófagos libres tienen forma oval. También existen diferencias funcionales, siendo los histiocitos formas más estables, mientras que los macrófagos presentan un mayor grado de actividad.

Si el cuerpo extraño es demasiado grande para ser fagocitado y eliminado, se forma un tejido de granulación que consta de fibroblastos y angioblastos en una matriz de colágeno, que encapsula el cuerpo extraño. Esto tiende a aislar el implante del resto de los tejidos del organismo. Con el tiempo esta lesión localizada puede sufrir necrosis caseosa, calcificación, licuefacción o hiperplasia.

Una vez que se produce la encapsulación fibrosa la lesión se denomina granuloma. Está formado por el cuerpo extraño rodeado de células gigantes, una zona de macrófagos y finalmente una membrana de tejido fibroso que la rodea. (Coleman y col., 1974).

I.8.2.4.-GRANULOMAS DE CUERPO EXTRAÑO EN LOS MATERIALES DE RELLENO:

Todos los materiales de relleno inducen reacciones de cuerpo extraño pudiendo evolucionar hacia granulomas en determinados pacientes; sin embargo hasta que el mecanismo de la formación del granuloma no sea

completamente descifrado, la frecuencia de su aparición a medio-largo plazo no puede ser predicha (Broder y col., 2006).

El término granuloma fue acuñado por primera vez por el patólogo alemán Virchow en 1858 (*Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebelehre*) que describió el granuloma como “una masa de aspecto tumoral, o nódulo, de tejido de granulación” (Rudolph y col., 1999). Hoy en día se considera que un granuloma es una reacción crónica inflamatoria predominantemente dérmica, caracterizada por colecciones organizadas de histiocitos o histiocitos epitelioides en el contexto de una reacción inflamatoria, con presencia o no de varios tipos de células gigantes (Strutton, 1997). Con la introducción de nuevos materiales de relleno la estructura de los granulomas de cuerpo extraño ha sufrido algunos cambios.

Los granulomas, en general, ocurren con una frecuencia de entre 0.01-0.1% dependiendo de la composición química, forma y estructura de superficie de las partículas (Lemperle y col., 2004). Se encuentran con menor frecuencia tras la implantación de microesferas con superficie lisa (Artecoll, New-Fill, Evolution) que con los de superficie irregular (Bioplastique, Dermalive). Asimismo se ven con menor frecuencia en materiales reabsorbibles (colágeno, ácido hialurónico) que en los de larga duración (Lombardi y col., 2004).

Desde el punto de vista clínico los granulomas son generalmente asintomáticos. Sin embargo, en ocasiones se observan respuestas floridas a cuerpo extraño incluso años tras el implante, denominándose a estas lesiones, granulomas inflamatorios (Rudolph y col., 1999).

Los granulomas asociados a la implantación de materiales de relleno pueden dividirse desde el punto de vista histopatológico en (Lombardi y col., 2004):

- a) Granuloma de cuerpo extraño clásico: el cuerpo extraño está rodeado por numerosas células gigantes de cuerpo extraño. Propio de Artecoll, Dermalive, New-Fill, etc.

- b) Granuloma quístico y macrofágico: microquistes en la matriz extracelular rodeados de un infiltrado mononuclear de macrófagos vacuolados. Típico de la silicona.

El análisis histológico de estos granulomas ha permitido determinar características propias de algunos de ellos, dependiendo del material de relleno que induce la formación de los mismos. El aspecto morfológico de las partículas permite identificar el producto infiltrado o su categoría (Rudolph y col., 1999).

- 1) *Granuloma por Silicona líquida*: Se identifica por la presencia de cavidades o microquistes vacíos, redondeados, de diferentes tamaños y en ocasiones confluentes, proporcionando a estos implantes un aspecto en “queso suizo”. Los microquistes y las vacuolas aparecen vacíos debido a que el aceite de silicona es totalmente eliminado en el procesado histológico. Las cavidades suelen estar rodeadas de una fina capa de colágeno, y de un infiltrado de células claras compuesto por una mezcla de macrófagos intensamente vacuolados y células gigantes. La silicona se identifica por la presencia de un material translúcente en el interior de los macrófagos. En ocasiones se aprecia la presencia de cuerpos circundantes de aspecto angulado que representan impurezas de la silicona. Esto se considera como un signo de seguridad de que el material inductor del granuloma es silicona (Ackerman y col., 1991).
- 2) *Granuloma por Colágeno bovino*: El colágeno bovino se diferencia del colágeno humano porque en el primero las bandas de colágeno son de mayor grosor, con ausencia de espacio entre las mismas y la presencia de abundantes histiocitos acompañantes. La reacción granulomatosa se caracteriza por histiocitos multinucleados entremezclados con linfocitos, células plasmáticas e innumerables eosinófilos que pueden considerarse como signo de hipersensibilidad de la piel humana al colágeno bovino (Ackerman y col., 1991).

- 3) *Granuloma por Parafina*: Es raro encontrarlo hoy en día. Tiene un aspecto vacuolado similar al encontrado en los granulomas por silicona. Presenta múltiples vacuolas en la dermis profunda y grasa subcutánea, de tamaños variables, rodeadas por bandas de colágeno engrosado. Suelen estar asociadas a una reacción granulomatosa con células gigantes multinucleadas (Soyer y col., 1988).
- 4) *Granuloma de Artecoll*: Infiltrado granulomatoso nodular y difuso en la dermis, grasa subcutánea adyacente y músculo esquelético. Presenta células epitelioides y escasas células gigantes entremezcladas con un infiltrado linfocítico difuso y algunos eosinófilos. La característica más significativa de este material es la presencia de vacuolas redondeadas que se asemejan a adipocitos, que representan el espacio ocupado por las esferas de polimetilmetacrilato (Rudolph y col., 1999).
- 5) *Granuloma de Bioplastique* : Se caracteriza por un infiltrado nodular granulomatoso dentro de un estroma esclerótico. Se observan estructuras quísticas distribuidas de forma difusa en todo el estroma esclerótico dándole una imagen en “palomita de maíz”. El infiltrado celular se caracteriza por células gigantes multinucleadas rodeadas de bandas de colágeno denso, entremezcladas con fibroblastos y un infiltrado de linfocitos con algunos eosinófilos (Rudolph y col., 1999).
- 6) *Granuloma de Dermalive*: Múltiples partículas pequeñas de diferentes tamaños, irregulares y de aspecto poligonal o cuerpos asteroides. Estas partículas pueden detectarse en el interior de algunas células gigantes (Lombardi y col., 2004).

I.9.- MATERIALES DE RELLENO

Como se indicó previamente existe un gran número de productos disponibles para su utilización como materiales de relleno, la mayor parte de los cuales se emplean con una finalidad primordialmente estética en el aumento de volumen de partes blandas. Sin embargo existen otros materiales que fueron inicialmente ideados o empleados con un carácter eminentemente reconstructivo, de uso más frecuente en la corrección de defectos óseos o cutáneos de origen congénito o adquirido, que posteriormente encontraron una aplicación adicional dentro del ámbito de la Cirugía Estética. Por último, existen materiales que, si bien reúnen las características para ser empleados como materiales de relleno, o bien no han gozado de la misma aceptación que otros productos, o son sustancias que han sido estudiadas de forma experimental y se hallan aún pendientes de confirmar su utilidad mediante la realización de ensayos clínicos.

En la descripción de los diversos materiales nos centraremos fundamentalmente en los rellenos de uso más frecuente en Cirugía Estética, por ser aquellos en los que se fundamenta nuestro trabajo de investigación.

I.9.1.- MATERIALES DE RELLENO DE USO MÁS FRECUENTE EN PROCEDIMIENTOS ESTETICOS:

I.9.1.1.- SILICONA

I.9.1.1.1.-Composición química y características físicas:

El término silicona fue introducido a comienzos del siglo XX por el químico inglés F.S. Kipping, como designación general a una familia de polímeros basados en el sílice o dióxido de silicio (SiO_2) cuyas formas varían físicamente desde la silicona líquida, pasando por los derivados semisólidos (gel) hasta los implantes sólidos (Tabla 1.5). La biocompatibilidad del gel de silicona se debe a la proximidad del silicio y el oxígeno en la tabla periódica.

Tabla 1.5.- Relación de la longitud de los polímeros y la viscosidad de la Silicona.

Nº de unidades de dimetilsiloxano	Viscosidad (Centistokes)	Parecido a
2	0,65	Agua
10	26	
70	100	
130	350	Aceite mineral
160	500	
200	1000	
550	12500	Gelatina (densa)

Siloxano es un acrónimo derivado de silicio, oxígeno y metano, que se refiere a cualquier variedad de compuestos químicos formados por cadenas alternantes de átomos de silicio y oxígeno con grupos de hidrocarbano. Los poliorganosiloxanos ($-R_2SiO-$) son polímeros de siloxano ($-SiO-$) con radicales orgánicos (R). Entre ellos, los polímeros de dimetilsiloxano son grandes moléculas de unidades repetidas de $-(CH_3)_2SiO-$ _x cuyas viscosidades varían en función del grado de polimerización designado por el subíndice x. A este grupo pertenecen los materiales de relleno derivados de la silicona.

El número de enlaces cruzados entre las cadenas de polidimetilpolisiloxano, determina las propiedades del implante. Con pocos enlaces cruzados se obtiene el polímero más corto, un líquido claro, viscoso, no-inmunogénico y químicamente no reactivo. La adición de finas partículas de sílice y peróxido de clorobenzoilo, permite la vulcanización de la silicona líquida en una goma sólida, al aumentar mucho el número de enlaces cruzados entre los grupos metilos laterales. Se consigue así un material sólido pero fácil de moldear conocido como Silastic (Boyce y col., 1992).

La silicona líquida empleada para aumentar tejidos blandos es la denominada silicona de grado médico, entendiéndose por grado médico, la silicona líquida, sin impurezas, estéril y de baja viscosidad (100 centistokes = viscosidad del agua).

La silicona líquida de grado médico es transparente, incolora, inodora y tiene un tacto aceitoso. Es una sustancia de gran estabilidad química: sus propiedades no son afectadas por un almacenamiento prolongado a temperatura ambiente, exposición a la luz solar directa o por la presencia de microorganismos.

En circunstancias normales es considerablemente hidrofóbica, insoluble en alcohol y completamente soluble en éter y solventes aromáticos y clorados. La viscosidad de la silicona líquida no cambia al variar la temperatura corporal (Homicz y col., 2004).

I.9.1.1.2.- DERIVADOS DE LA SILICONA:

Actualmente existen varios productos comercializados que contiene silicona:

- 1) Silicona líquidas de grado médico: PMS 350 (Vikomed, Germany); Silikon 1000 (Alcon laboratories, Fort Worth, Texas); Silskin 1000 (Richard-James Development Corp., Peabody, Mass.), Adatosil 5000 (Bausch & Lomb Pharmaceuticals, Inc.; Rochester, N.Y.).
- 2) Bioplastique (Uroplasty BV, Geleen, The Netherlands): micropartículas de goma de silicona texturizada suspendidas en un hidrogel biocompatible y reabsorbible de polivinilpirrolidona.
- 3) Silastic (Dow-Corning, Midland, Michigan, USA): silicona solidificada. Se usa en aumento malar y submalar, aumento geniano y del dorso nasal; asimetrías frontales y temporales, y en tiroplastia (Coleman y col., 1974).

De todos ellos, la silicona líquida es el producto más frecuentemente empleado como material de relleno.

I.9.1.1.3.- HISTORIA:

Ningún material de relleno ha suscitado tanta controversia en cuanto a su uso como la silicona líquida. Sus defensores argumentan que es el material de relleno “casi perfecto” por la superioridad en lo que se refiere a la predecibilidad y la durabilidad de los resultados (Orentreich, 2005). Por otro

lado sus detractores consideran que sus resultados no son predecibles y consideran que no debe de ser implantado en el organismo (Narins, 2006).

Los primeros derivados de la silicona fueron elaborados por Dow Chemical (Michigan, Estado Unidos), como aislantes eléctricos durante la segunda guerra mundial. Posteriormente se emplearon para lubricar las agujas y jeringas pero no estaban dirigidos a su uso en humanos. La silicona se empezó a estudiar como producto médico a finales de los años cuarenta (Mak y col., 1994) y en 1963 Dow-Corning (Midland, MI) produjo la primera silicona líquida de grado médico (MDX 4-4011) (Sclafani y col., 2000). El primer artículo sobre el uso del dimetilpolisiloxano es de Wegener 1957 (Rugasil, Neue Apotheke, W.Germany). En 1960 el uso del polidimetilpolisiloxano puro de 350 centistokes de viscosidad, fue aprobado por la FDA (Administración Federal de Alimentación y Drogas de los Estados Unidos) como material aloplástico inyectable para aumentar tejidos blandos. La silicona de grado médico ha sido usada más que ningún otro material en los últimos cuarenta años y ya en 1990 más de 1.000.000 de pacientes había recibido inyecciones de gel de silicona en la cara.

La técnica empleada se considera de gran importancia a la hora de obtener buenos resultados. Se considera que el uso de la silicona líquida es un procedimiento seguro y eficaz si se emplean cantidades máximas de 0.10 ml., inyectándolo en la unión de la dermis con el tejido subcutáneo y mediante la técnica de microgotas (Webster y col., 1984; Webster y col., 1986; Orentreich y col., 1988; Coleman y col., 1993). Esta técnica consiste en aplicar cantidades de 0,005 a 0,01 ml en intervalos de 2 a 10 mm. Mediante este procedimiento (Webster y col., 1984; Orentreich y col., 1989) la silicona inyectada induce la formación de una cápsula fibrosa de colágeno alrededor del producto. Algunos autores indican que su aplicación debe de ser mensual hasta conseguir el efecto de relleno deseado, siendo imprescindible una subcorrección del defecto debido a que el proceso de fibrosis que se produce, añade volumen a la silicona inyectada (Homicz y col., 2004). La inyección de silicona ha sido exitosa en el tratamiento de la enfermedad de Romberg y otras deficiencias específicas de partes blandas (Moscona y col., 1989).

Una de las principales causas de los efectos secundarios asociados a la utilización de la silicona líquida fue el empleo de siliconas no purificadas. Una de estas formas adulteradas, conocida bajo el nombre de “fórmula japonesa o Samurai”, que contenía una mezcla de silicona y “aceite dulce” (aceite de oliva), fue inyectada en miles de pacientes durante la década de los 60 por profesionales japoneses, suizos y alemanes, fundamentalmente para el aumento de mamas. El uso abusivo de esta silicona líquida, con inyección de grandes cantidades de producto por cirujanos inexpertos, hizo que surgieran una gran variedad de problemas, entre ellos la aparición de nódulos granulomatosos en los tejidos infiltrados y la migración del producto (Ersek, 1991). Fue prohibida por la FDA en 1991 (Webster y col., 1984) por su posible asociación con reacciones autoinmunes (Pinski y col., 1992). Las dos únicas siliconas líquidas aprobadas recientemente por la FDA [Adatosil 5000 (Bausch & Lomb Pharmaceuticals, Inc.; Rochester, N.Y.) y Silikon 1000 (Alcon Laboratorios, Inc.; Fort Worth, Texas)] son para uso en Oftalmología. Su uso está dirigido a la inyección intraocular en caso de desprendimientos de retina complicados, usándose con carácter “off-label” en el aumento de partes blandas. Actualmente se están realizando ensayos clínicos sobre el uso de la silicona como material de relleno, pudiendo ser aprobado por la FDA en un futuro (Graivier y col., 2006).

Derivados sólidos del polidimetilpolisiloxano se emplean en aumento de mentón y en la producción de válvulas cardíacas, shunts ventrículo-peritoneales y guías de marcapasos.

I.9.1.1.4.- HISTOLOGÍA:

A) Siliconas de grado médico

La existencia en este producto de componentes hidrofóbicos de tipo oleaginoso que tienen alta afinidad por las membranas celulares (Bakker-Woundenberg y col., 1993), aumenta su tendencia a entrar en las células inflamatorias, fundamentalmente los macrófagos y las células gigantes.

Si las partículas de silicona tienen entre 20 y 60 micras de tamaño, el resultado es una reacción inflamatoria de tipo crónico (Coleman y col., 1974). La silicona líquida es por tanto un material que puede ser fragmentado en partículas y fagocitado por los macrófagos, dispersándose en el tejido circundante en forma de miles de gotas (Nahum y col., 1998).

Histológicamente se observa que tras la inyección de silicona líquida existe un desplazamiento del tejido conectivo dérmico y la producción de cápsulas rodeadas de fino colágeno (Orentreich, 2000)

Histología:

En uno de los primeros estudios experimentales realizados con este producto en ratas (Rees y col., 1965), se observa al cabo de seis semanas una desestructuración de la dermis, subdermis y panículo adiposo de las muestras analizadas. Se observa asimismo la presencia de espacios vacíos de diferentes tamaños dispersas entre los tejidos que se considera que corresponden a vacuolas de silicona. En algunos casos se observa una reacción inflamatoria moderada alrededor de estas vacuolas. En este mismo trabajo se indica que al cabo de 6 meses el infiltrado celular desaparece si bien existe un aumento de tejido conectivo a nivel dérmico. La presencia de este aumento del colágeno dérmico se hace más evidente al cabo de nueve meses. Se describe la presencia de unas células atípicas grandes de aspecto redondeado y que recuerdan en su morfología a células grasas, que se podrían corresponder con macrófagos en fase de fagocitosis del producto. Por último se concluye que el dimetilpolisiloxano es bien tolerado por los tejidos, induciendo una mínima reacción tisular inflamatoria (Rees y col., 1965). En otro trabajo experimental en el que se realizaron inyecciones masivas de silicona a nivel subcutáneo, los hallazgos histológicos fueron similares, con la presencia de quistes de varias formas y tamaños rodeados de una cápsula fibrosa fina. De la misma manera que en el estudio previo, se considera que la silicona líquida inducía una mínima o nula reacción inflamatoria (Ballantyne y col., 1965).

En un trabajo publicado en 2003 por Lemperle en biopsias de piel humana en la que se inyectó silicona, los hallazgos histológicos en el interior de los

implantes de este producto mostraron una evolución progresiva de los mismos hacia la fibrosis (Lemperle y col., 2003):

- 1 mes: cada gota es encapsulada por una monocapa de fibroblastos y fibras de colágeno.
- 3-6 meses: se ven macrófagos y células gigantes que fagocitan el material. El citoplasma de estas células adquiere un aspecto espumoso, conteniendo partículas asteroides de un material birrefringente.
- 9 meses: aparición de nódulos granulomatosos en dermis y tejido subcutáneo rodeados de bandas de tejido fibroso.

En trabajos con períodos de estudio más prolongados se ha observado, al cabo de 14 meses, una intensa fibrosis que clínicamente aporta el aspecto de un aumento de volumen tisular (Nahum y col., 1998).

En la mayor parte de los pacientes el gel de silicona permanece blando y es rodeado por una capa muy fina de fibroblastos (Lemperle y col., 2003) lo que hace que, en contraste con otros productos, la textura proporcionada por la silicona se asemeje bastante a la del tejido normal.

En 1990, Hinderer observó la existencia de espacios vacíos rodeados de histiocitos y algunas células gigantes. Al cabo de dos meses estos espacios estaban rodeados de algunos capilares, células inflamatorias y colágeno, no observando pérdida de volumen con el tiempo (Hinderer y col., 1990).

Se ha llegado a afirmar que la silicona líquida ha demostrado tener la menor reactividad fisiológica de casi todos los materiales inertes (González y col., 1967).

B) Bioplastique

Es un material bifásico compuesto por micropartículas de goma de silicona texturizada (38%) suspendidas en un hidrogel (62%) biocompatible y reabsorbible de polivinilpirrolidona (C₆H₉NO)_n. Inducen una reacción de cuerpo extraño que termina en fibrosis y efecto de relleno.

Las micropartículas tienen un diámetro medio de 100 a 600 micras por lo que no pueden ser fagocitadas por los macrófagos; sin embargo su tamaño, suficientemente pequeño, permite que sean inyectadas con facilidad. La superficie texturada facilita el crecimiento de tejido huésped, induciendo la formación de una matriz de colágeno (Ersek y col., 1991) que disminuye la movilidad del implante y la encapsulación reactiva del mismo (Robertson y col., 1996).

El gel de transporte es reabsorbido por el organismo en 96 horas y es eliminado vía renal de forma intacta; el hidrogel es sustituido por fibrina y células inflamatorias. A los 14 días aparecen fibroblastos que sustituyen la base de fibrina por una matriz de colágeno (Allen, 1992).

La inyección de Bioplastique en humanos y en animales, induce una reacción crónica de cuerpo extraño con la presencia de células gigantes (Ersek, 1991). Entre sus complicaciones se ha descrito la aparición de granulomas (Rudolph y col., 1999). Nunca ha sido aprobado por la FDA.

C) Silastic

En los implantes duros de silicona no se produce crecimiento de tejido fibroso dentro del material, formándose en su lugar una cápsula periprotésica. Esta falta de crecimiento tisular puede producir deslizamiento e incluso extrusión del implante, fundamentalmente cuando se usa en rinoplastias de aumento del dorso nasal, como se practica en los casos de nariz oriental; asimismo la formación de una envoltura de tejido fibroso hace que algunos implantes de silicona se vuelvan duros por retracción o contractura de la misma.

I.9.1.1.5.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

La casuística de efectos secundarios asociados a la inyección de silicona es amplia.

Las causas asociadas a la aparición de reacciones adversas a la silicona incluyen:

- 1- La inyección de grandes cantidades de producto
- 2- La utilización de fórmulas no purificadas.
- 3- La inyección en el plano inadecuado.

Los efectos secundarios pueden aparecer desde un mes hasta 20 (Rapaport y col., 1996) ó 25 años tras el tratamiento (Orentreich, 2000) siendo los más frecuentes la aparición de nódulos de tipo granulomatoso o siliconomas y la migración del gel.

A) Siliconomas:

La primera publicación de siliconomas fue en ratas tras la inyección de silicona líquida, siendo descritas como formaciones tumoriformes similares a granulomas de cuerpo extraño (Ben-Hur y col., 1965). Hoy en día se continúa publicando trabajos sobre la presencia de reacciones granulomatosas tras la inyección de silicona, más frecuentemente tras la implantación de la misma en los labios (Byrne y col., 2004; Ficarra y col., 2002).

Los siliconomas se diagnostican habitualmente por la presencia de induración en el tejido donde se realizó la inyección de silicona, palpándose uno o varios nódulos de consistencia dura, que en ocasiones pueden ser dolorosos y deformantes (Coleman y col., 1974). La aparición de los mismos no es siempre predecible, pudiendo surgir nódulos granulomatosos muchos años tras la implantación del producto (Nosanchuk, 1968; Chaplin, 1969; Kuiper, 1973; Piechotta, 1979).

Una de las principales causas de su aparición es la utilización de silicona adulterada o en grandes cantidades, lo que induce una reacción inflamatoria crónica de tipo granulomatoso con formación de tejido fibroso (Rapaport y col., 1996; Maas y col., 2001). En otras ocasiones los problemas se asocian a sobrecorrecciones que producidas por bloqueo del sistema linfático o a su inyección en lugares inadecuados (Pollack, 1990).

Se considera que los resultados son muy dependientes de la técnica: la inyección de múltiples microgotas (volúmenes no mayores de 0,01ml) induce

una reacción fibroplásica con deposición selectiva de colágeno. En la revisión realizada en 1986 por Webster, se describe que, a lo largo de veinte años, en los 2811 pacientes tratados con silicona mediante la técnica de microgotas, las únicas complicaciones descritas fueron dos casos de infección que respondieron a tratamiento antibiótico (Webster y col., 1986).

Los siliconomas son difíciles de tratar llegando a producir defectos permanentes o cicatrices desfigurantes. Cientos de mujeres requirieron mastectomías totales debido a la inflamación crónica asociada a la inyección de grandes cantidades de aceite de silicona directamente en la mama.

Como refiere Rudolph en 1999 (Rudolph y col., 1999), los granulomas por silicona líquida se caracterizan histológicamente por la presencia de un material angulado, transluciente, en el interior de macrófagos multinucleados e histiocitos. Estas células aparecen repletas de pequeñas vacuolas en el citoplasma y generalmente acompañado de fibrosis circundante prominente. Los cuerpos angulados circundantes representan impurezas de la silicona, considerándose como un signo de seguridad de inyección de silicona (Ackerman y col., 1991).

B) Migración

La falta de formación de una cápsula alrededor del implante permite el desplazamiento del mismo si se implanta en grandes cantidades. Esta migración se puede producir bien hacia los tejidos próximos al lugar de implantación, ayudado por el efecto de la gravedad y siguiendo los planos naturales de clivaje, o a distancia, haciéndolo habitualmente a los ganglios linfáticos (Hinderer y col., 1990).

C) Alteraciones Cutáneas

Se han descrito diversas modificaciones en la consistencia y grosor de la piel, entre ellas el adelgazamiento (Spira y col., 1993) o engrosamiento cutáneo (Selmanowitz y col., 1977), así como cambios en la textura (induración y aspecto arrosariado o “beading” (Pollack, 1990)) y coloración de la piel (Cooperman y col., 1985; Selmanowitz y col., 1977).

D) Efectos Locales y a Distancia

En 1 de cada 10.000 pacientes aparecen reacciones de tipo idiosincrásico con hinchazón y eritema hasta varios meses tras la inyección (Homicz y col., 2004).

Los efectos sistémicos se han asociado siempre a la inyección de grandes cantidades de silicona, como los empleados en tejido mamario, describiéndose hepatitis granulomatosa, embolismo pulmonar y neumonitis por silicona (Homicz y col., 2004).

La variada percepción de los riesgos en relación a los beneficios es lo que ha creado tanta controversia a pesar del uso continuado de la silicona en los últimos cuarenta años (Orentreich, 2000). La reputación de la silicona líquida se ha visto dañada por cinco factores:

- 1- La utilización de grandes cantidades.
- 2- El riesgo de migración en pacientes con la piel o el tejido subcutáneo muy laxos.
- 3- La posibilidad de formación de granulomas o siliconomas tardíos (5 a 20 años).
- 4- La substitución por siliconas más baratas, no purificadas y manejadas por personal no cualificado.
- 5- La falta de experiencia de la mayor parte de los médicos para tratar los casos raros de siliconoma.

I.9.1.2.-COLÁGENO

El colágeno ha sido el material de relleno más empleado en todo el mundo en las dos últimas décadas (Krauss, 1999), considerándose hoy día como el material de referencia con el que se compara cualquier otra sustancia que se quiera emplear como producto de relleno inyectable (Ersek, 1991; Larrabee y col., 1993; Cohen, 2004).

I.9.1.2.1.-COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

El colágeno es la proteína más abundante y de mayor tamaño del organismo. Es una proteína estructural presente en cantidad variable en la matriz extracelular de todos los tipos de tejido conectivo. El colágeno se dispone en forma de haces de fibras responsables de aportar al tejido extracelular su resistencia tensil y su elasticidad, además de formar un andamiaje sobre el cual están desplegadas las células fijas (Klein, 2001).

El colágeno está constituido por tres cadenas de aminoácidos conocidas por cadenas alfa, cada una con 1.000 aminoácidos y unidas en una triple hélice. Existen varios tipos de cadenas α según la secuencia de aminoácidos que las constituyan. La combinación de estos tipos de cadenas da lugar a distintos tipos de colágeno. La mayor parte del colágeno humano (aproximadamente el 80%) corresponde a colágeno tipo I, seguido del colágeno tipo II (aprox. 20%); el resto corresponde al colágeno tipo III y IV. La porción helicoidal de la proteína constituye el 96% de su estructura; el resto corresponde a unas estructuras no helicoidales situadas en el extremo amino-terminal de la molécula denominadas telopéptidos (Castrow y col., 1983). Las moléculas que constituyen el colágeno son muy parecidas entre las distintas especies de mamíferos excepto a nivel de los telopéptidos. Esta porción es la que presenta mayor variabilidad química (Timpl y col., 1970), conteniendo algunos componentes inmunógenos (Davidson y col., 1967; Schmitt y col., 1964). Cuando se quieren emplear materiales de relleno que contengan colágeno de otras especies, es preciso realizar la hidrólisis enzimática de las porciones de telopéptido, para reducir su inmunogenicidad y obteniendo así lo que se denomina como derivados purificados (Rubin y col., 1963).

Dentro de la piel, la dermis contiene dos sustancias especialmente importantes: una red de colágeno y una fase acuosa, dentro de la cual se encuentra el colágeno, compuesta fundamentalmente de ácido hialurónico (Tabla 1.6) (Lemperle y col., 2003; Hotta, 2004). Tanto el colágeno como el ácido hialurónico se encuentran con frecuencia formando parte de los materiales de relleno.

Tabla 1.6.- Composición de la Piel (Lemperle y col., 2003)

Sustancia	Proporción
Colágeno	27-39%
Elastina	0,2-0,6%
Glucosaminoglucanos	0,03-0,3%
Agua	60-72%

El proceso de envejecimiento hace que la red de colágeno se debilite y pierda su elasticidad. Un componente importante del envejecimiento facial incluye la pérdida de volumen que se manifiesta por la reducción de grasa subcutánea y la pérdida de colágeno dérmico (Nicolle, 1985; Kohn y col., 1989).

I.9.1.2.2.- MATERIALES DE RELLENO QUE CONTIENEN COLÁGENO:

A) Colágeno Xenogénico:

Bovino: Zyderm1, Zyderm2, Zyplast, Resoplast, Koken
Atelocollagen, Endoplast-50, Artecoll.

Porcino: Fibrel, Permacol, Evolence, Fibroquel, Surgisis.

B) Colágeno Autólogo: Autologen, Isolagen, Cosmoderm, Cosmoplast.

C) Colágeno Homólogo/Alogénico: Dermalogen, Alloderm, Facian, Cymetra.

I.9.1.2.3.- HISTORIA:

Knapp, en 1977 emplea por primera vez publicó el primer trabajo en el que se emplea el colágeno como material de relleno inyectable. Analizó la evolución de implantes subcutáneos de colágeno en ratas a lo largo de 152 días, observando la infiltración de dichos implantes por tejido conectivo viable. En el mismo año se publicaron los primeros estudios en humanos (Knapp y col., 1977).

Desde que se aprobó en 1981, se ha utilizado en más de 1.900.000 personas en todo el mundo.

También se han empleado productos derivados del colágeno en parálisis de las cuerdas vocales, incontinencia urinaria, reflujo gastroesofágico, reflujo vesicoureteral y en embolizaciones tumorales (Keefe y col., 1992).

- Colágeno Bovino:

En 1981 salió al mercado el primer colágeno bovino altamente purificado llamado Zyderm 1 (Colagen Corporation, Palo Alto, California), con una concentración de colágeno de 35 mg/ml (95% colágeno tipo I y 5% tipo III). Este producto está formado por una suspensión estéril de colágeno bovino disperso en suero salino fisiológico y tamponado con fosfato, que contiene un 0,3% de lidocaina. Fue seguido por Zyderm 2 en 1983, con el mismo tipo de colágeno pero en una concentración mayor (65 mg/ml). En 1985, se introdujo un colágeno bovino con enlaces cruzados con glutaraldehído llamado Zyplast. Se diferencia de sus predecesores por presentar una mayor resistencia a la biodegradación (McPherson y col., 1986).

El Zyderm 1 y 2 son empleados para aumento dérmico superficial, mientras que el Zyplast aporta aumento de la dermis profunda. El colágeno bovino empleado se obtiene de un rebaño cerrado de animales, evitando cualquier posibilidad de contaminación con el príón de la encefalopatía espongiforme bovina (Klein, 2001).

El colágeno de origen bovino ha sido el más usado de todos los colágenos inyectables, y el material de relleno inyectable más usado en todo el mundo. Se considera el “gold estandar” a la hora de evaluar otros productos de posible uso como materiales de relleno (Klein, 2001; Larrabee y col., 1993). Por ello en el resto de los apartados haremos referencia a la histología y efectos secundarios asociados a su uso.

Derivados del Colágeno Bovino:

- a) Zyderm /Zyplast (Inamed Corp, Arklow, County Wicklow, Ireland): los más empleados con gran diferencia.
- b) Koken Atelocollagen (Koken, Tokio, Japan): solución mononuclear de colágeno bovino.

- c) *Endoplast-50* (Laboratories Filorga, Paris, France): péptidos de elastina con colágeno. Induce la proliferación de fibroblastos que producen colágeno.

I.9.1.2.4.-HISTOLOGÍA DEL COLÁGENO BOVINO:

El principal inconveniente del colágeno bovino es el carácter temporal de su efecto como material de relleno. Entre las causas que explican la pérdida de volumen de esta sustancia se encuentran:

- 1) El colágeno bovino es degradado por las colagenasas humanas y por las células inflamatorias.
- 2) La matriz de colágeno inyectada en forma líquida se polimeriza espontáneamente en el espacio subcutáneo en ratas (Knapp y col., 1977), sufriendo además una importante reabsorción de agua en las primeras 24 horas tras la inyección (Cheng y col., 2002). A 37° C las fibras de colágeno precipitan, transformándose en una masa cohesiva (Gross y col., 1958; Robertson y col., 1996).
- 3) El colágeno implantado no es sustituido por colágeno del receptor (Hinderer y col., 1990; Sclafani y col., 2001).

Por todo lo anterior algunos autores consideran que el efecto del colágeno bovino, es debido fundamentalmente a que estimula una respuesta inflamatoria crónica tisular, que se traduce en edema tisular (Nicolle, 1982; Fagien, 1998; Elson, 1998). Esta reacción inflamatoria estimula además la rápida degradación del producto.

Según Knapp (Knapp y col., 1977), durante la primera semana los fibroblastos invaden el colágeno implantado y hay vasos en su superficie, pero al cabo de tres *semanas*, la respuesta inflamatoria observada en las primeras 72 horas, consistente en histiocitos y granulocitos, deja de existir. Transcurridas 20 *semanas*, el implante persiste como un injerto vascularizado y colonizado

por las células del tejido huésped formando una matriz para el crecimiento de tejido conectivo, que lo hace indistinguible del tejido huésped vecino.

Hinderer, en 1990 (Hinderer y col., 1990), describe que el colágeno se caracteriza por inducir una mínima reacción inflamatoria con algunos histiocitos, células gigantes y con reacción leucocítica, pero en el interior del producto no se observa componente celular. A los dos meses, el colágeno se presenta en forma de masas sin apariencia de fibras elásticas y rodeadas de fibroblastos. Dentro de las masas hay capilares y algunas células mononucleares. Según este autor el colágeno implantado no es sustituido por colágeno propio del receptor.

Zyplast puede estimular la actividad fibroblástica mientras que Zyderm no lo hace (Elson, 1988; Knapp y col., 1977).

En el análisis histológico de implantes de Zyplast realizado por Lemperle en 2003 (Lemperle y col., 2003) se describe que:

- después de 1 mes se observa la presencia de macrófagos y capilares que invaden en la circunferencia del implante.
- a los 3 meses existe una infiltración gradual de células inflamatorias y una pequeña deposición de fibras de colágeno aparentemente nuevo.
- transcurridos 6 meses, no hay (no se aprecian) residuos de Zyplast.

La capacidad del colágeno bovino de estimular la formación de colágeno propio por parte de los tejidos en los que se implanta, ha sido motivo de controversia entre diferentes autores. En los primeros estudios histológicos realizados por Knapp en 1977, se apunta la capacidad de generación de colágeno nuevo por esta sustancia (Knapp y col., 1977), opinión secundada más tarde por otros autores (Elson, 1988; Lemperle y col., 2003; Burke y col., 1983; Armstrong y col., 1984; McPherson y col., 1986). Por el contrario, en otros estudios histopatológicos, no se ha evidenciado la noformación de colágeno por parte del tejido en el que se implanta (Sclafani y col., 2001; Hinderer y col., 1990).

I.9.1.2.5.- REACCIONES ADVERSAS AL COLÁGENO BOVINO:

La incidencia global de reacciones adversas con Zyderm es de aproximadamente el 1% (Robinson y col., 1985; Pierce, 1984), y se clasifican en efectos secundarios locales y sistémicos.

1) *Reacciones adversas locales:*

1.1) *Reabsorción:* aunque hay satisfacción generalizada con los resultados clínicos, el mayor inconveniente de los derivados del colágeno, fundamentalmente con los inyectados, es la naturaleza temporal de la corrección creando cierta controversia acerca de este material (Matti y col., 1990). A pesar de las técnicas de sobrecorrección y las inyecciones repetidas necesarias para conseguir resultados duraderos, el efecto de reposición de volumen desaparece pasados tres meses a un año según el producto (Kligman y col., 1986; Klein, 1988), requiriendo mantenimiento periódico. La duración de los derivados del colágeno es mayor a nivel intradérmico que cuando se inyecta en el tejido subcutáneo. Hay autores que consideran que los efectos estéticos positivos en lo que se refiere a la reducción de arrugas y aumento de el tejido dérmico se debe al edema inflamatorio causado por la inyección de proteínas extrañas y no tanto por el efecto de aumento del propio material implantado (Fagien, 2001).

1.2) *Reacciones alérgicas:* es el efecto secundario más frecuente asociado a la utilización de colágeno bovino y su incidencia oscila, según los autores, entre el 3 y el 5% (Fagien, 1998). Las reacciones alérgicas aparecen como eritema, hinchazón, prurito e induración. Histológicamente se observa una respuesta tisular tipo granulomatosa (Kligman y col., 1986; DeLustro y col., 1987). Si aparece, en el 80% de los casos lo hará en las cuatro primeras semanas tras el tratamiento (Spira y col., 1993). La duración de esta reacción alérgica es de 4-6 meses de media y en ocasiones hasta 12 meses (Timpl y col., 1970; Cucin y col., 1983; Pierce, 1984; Elson, 1988). Las reacciones alérgicas

se deben a la presencia de anticuerpos anticolágeno bovino (Robinson y col., 1985), detectado en el 90 a 100% de los pacientes que la desarrollan. Estos anticuerpos no presentan reactividad cruzada con el colágeno humano ni forman complejos autoinmunes (Elson, 1988). Sin embargo, algunos autores han demostrado anticuerpos anti-colágeno bovino en el 18% de los pacientes sin reacción alérgica asociada, sugiriendo que dicha circunstancia puede estar asociada a inmunizaciones previas, probablemente por contacto con proteínas de la leche (Cooperman y col., 1984).

Para disminuir la incidencia de reacciones alérgicas, se estableció la obligatoriedad de realizar un *test cutáneo* previo a todos los pacientes que querían ser sometidos a inyecciones de colágeno bovino, descartando para el tratamiento a todos aquellos que diesen positivo. Tras un test cutáneo negativo el 1,3% de los pacientes presentan una reacción local con eritema e hinchazón local (Cooperman y col., 1985). Este test consiste en la inyección de 0,1 ml. de Zyderm en la cara volar del antebrazo. El brazo se examina al tercer día, ya que el 70% de las reacciones aparecen en las primeras 72 horas, y a las cuatro semanas. Existe reactividad en el 3% de los casos (Robinson y col., 1985), lo que indica una sensibilización previa.

Aquellos pacientes con un test positivo postimplantación deben ser excluidos del tratamiento. Si el test es dudoso, se debe de repetir en el brazo contrario.

Test positivo: eritema de cualquier grado, induración, dolor, hinchazón de la zona, con o sin prurito, que persiste durante más de 24 horas tras la implantación (Collagen Corporation, 1991).

Aproximadamente un 1 a 2% de los pacientes que no son positivos al test lo son al tratamiento (se sensibilizan con el test) (Stegman y col., 1998) por lo que hay autores que aconsejan realizar dos test cutáneos previos al tratamiento (Klein, 1988). Se han descrito casos de pacientes que desarrollan alergia al colágeno bovino incluso después de dos test negativos (Fagien y col., 2001).

- 1.3) *Quistes y Abscesos*: se producen con una frecuencia del 0,04% (Stegman y col., 1988; Hanke y col., 1991; Keefe y col., 1992; Morhenn, 2002).
- 1.4) *Granulomas de cuerpo extraño*: La aparición de granulomas tardíos en el lugar de la inyección (Overholt y col., 1993, Moscona y col., 1993), es un efecto secundario poco frecuente y de menor intensidad que el que se observa con rellenos de absorción lenta y materiales particulados (Stegman y col., 1988; García-Domingo y col., 2000; Morhenn, 2002).
- 1.5) *Blanqueamiento cutáneo y aspecto perlado*. Se produce por la inyección muy superficial en pieles delgadas. Más frecuente cuando se inyecta Zyplast (Homicz y col., 2004).
- 1.6) *Embolismos vasculares*: asociando necrosis cutánea e incluso ceguera. Más frecuentes cuando la inyección se realiza a nivel de la glabella (Pollack, 1990; Klein, 1988).

2) *Reacciones adversas sistémicas*: frecuencia del 0,2% (Keefe y col., 1992)

Menos de 5 por cada 1000 pacientes presentan dolores de cabeza, náuseas, artralgias, rash o reacciones anafilácticas (Keefe y col., 1992). En otras revisiones se han descrito también artralgias y mialgias (Robinson y col., 1985).

En dos estudios promovidos por la FDA en 1989 y 1992, no se encontró asociación entre el colágeno bovino y cualquier enfermedad de origen autoinmune. Tampoco existen datos que confirmen la relación con la dermatomiositis ni otras enfermedades vasculares (DeLustro y col., 1988; Hochberg, 1993), ni se ha demostrado la presencia de anticuerpos en pacientes con sintomatología sistémica (De Lustro y col., 1987).

I.9.1.2.6.- OTROS DERIVADOS DEL COLÁGENO:

A) Colágeno Porcino

- **Resoplast** (Rofil Medical International, The Netherlands): colágeno bovino mononuclear; igual al utilizado como base en el Artecoll.

- **Fibrel** (Mentor Corp., Goleta, GA): disponible para aumento de tejidos desde 1988. Aprobado por la FDA en 1990, para su uso en estética facial. Compuesto por 100 mg de colágeno porcino tipo I desnaturalizado en polvo y 125 mg de ácido epsilonaminocaproico. Para su inyección se debe de mezclar con 0,5 ml de suero del paciente obteniéndose un producto con aspecto de gelatina (Coleman y col., 1993). La combinación de estos productos pretende imitar y amplificar el proceso normal de coagulación y cicatrización, con deposición de colágeno del propio paciente en el área tratada (Spira y col., 1993).

Induce la activación de fibroblastos con la consiguiente deposición de colágeno.

- **Permacol** (Tissue Science Laboratorios, UK): implante permanente de colágeno porcino sólido en láminas.

- **Artecoll** (Rofil Medical International, The Netherlands): material de relleno bifásico que contiene colágeno porcino mononuclear y microesferas de polimetilmetacrilato.

- **Surgisis** (Cook, Bloomington, IN): colágeno acelular porcino obtenido de la submucosa del intestino delgado. Presentado en láminas de varios tamaños.

B) Colágeno Humano

- **Autologen** (Collagenesis; Beverly, MA): fue el primer agente autólogo inyectable, introducido a finales de 1980 como alternativa ante las reacciones adversas observadas con el colágeno bovino (Fagien, 1994).

Extraído de piel obtenida de otros procedimientos quirúrgicos, se realiza un procesamiento de la dermis, obteniendo un colágeno muy estable y resistente a la digestión enzimática. Entre los inconvenientes están la necesidad de unos 10 cm² de tejido para obtener 1 ml de producto (Wall, 2002) y el elevado coste del mismo (Ashinoff, 2000).

- **Isolagen** (Isolagen Technologies; Houston, TX): es un producto constituido por colágeno producido por fibroblastos autólogos obtenidos tras una biopsia de piel retroauricular mediante punch de 3 mm. Los fibroblastos de dicha biopsia se aíslan y cultivan en medio con factores de crecimiento durante cuatro semanas. Se inyecta a nivel de la dermis. Actualmente ya no se produce por falta de buenos resultados. Pendiente de resultados clínicos para su aprobación por la FDA.

Entre las ventajas de dicho material se encuentran:

- Ausencia de reacciones adversas.
- Duración más prolongada que el colágeno bovino (corrección del 75% al cabo de un año).

Las desventajas de este producto son:

- Necesidad de realizar el cultivo en las primeras 48 horas tras la obtención de la biopsia.
- Obtención de 1 cm³ cada dos semanas.
- Necesidad de múltiples inyecciones.
- No se puede emplear en mayores de 60 años, al no producir los fibroblastos suficiente cantidad de colágeno (Ashinoff, 2000).
- La utilización de factores de crecimiento durante el cultivo celular. Por este motivo se ha establecido su prohibición temporal en USA, hasta que se realicen más estudios de seguridad al respecto (Homicz y col., 2004).

- Requiere sobrecorrección de hasta un 300% y 3 sesiones de inyección, debido al alto grado de reabsorción (Wall, 2002).

- **Dermalogen** (Collagenesis, Beverly, MA): suspensión de colágeno acelular humano inyectable, que contiene fibras de colágeno de dermis intactas, elastina y glucosaminoglicanos. Obtenido de donantes de tejidos, requiere un screening para descartar la presencia de virus, priones, bacterias, u hongos así como un procesado para eliminar el componente celular de la piel. Los estudios histológicos muestran una neovascularización del producto y depósito de colágeno del receptor. Si se implanta muy superficialmente pueden aparecer unas elevaciones cutáneas con aspecto de quistes de milia que tardan en desaparecer meses. (Ellis y col., 2001).

- **Dermaplant** (Collagenesis, Beverly, MA): injerto acelular de grosor variable obtenido por procesado de piel de banco de tejidos. Se caracteriza por no tener colágeno tipo IV (eliminando la posibilidad de enfermedad autoinmune) y espacios interlamelares más grandes entre la fibras de colágeno.

- **Cosmoderm/ Cosmoplast** (Allergan Inc., Irvine, CA): colágeno humano altamente purificado diluido en suero salino fisiológico búfer-fosfato con 0,3% de lidocaína. Se diferencian en que el Cosmoplast contiene mayor número de enlaces cruzados entre sus moléculas. Cosmoderm se emplea en arrugas superficiales y Cosmoplast como relleno de arrugas de mayor grosor. Aprobados por la FDA en Marzo de 2003. No precisan test cutáneo previo (Klein, 2001).

- **Colágeno de placenta humana y humano recombinante:** Estos materiales son menos empleados por el elevado coste de obtención y los efectos secundarios derivados de su uso (Hinderer y col., 1990).

I.9.1.3.- ÁCIDO HIALURÓNICO

I.9.1.3.1.-COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

El ácido hialurónico es una molécula que se encuentra en la matriz extracelular de los tejidos conectivos de todas las especies, formando parte de las membranas intersticiales, la dermis, las articulaciones y el cuerpo vítreo del ojo.

El ácido hialurónico pertenece a una familia de macromoléculas conocidas como glucosaminoglicanos. Los glucosaminoglicanos son cadenas largas de polisacáridos formados por la repetición de unidades de disacáridos, que en el ácido hialurónico están integrados por ácido glucorónico y N-acetil glucosamina.

La composición hidrofílica del ácido hialurónico atrae agua hacia la matriz confiriéndole un cierto grado de turgencia. Parece existir una estrecha correlación entre el contenido de agua en la piel y los niveles de ácido hialurónico en la misma. La piel juvenil contiene una fuerte red de ácido hialurónico en la matriz extracelular (Brown y col., 2003; DeVore, 1996).

Al encontrarse en los tejidos conectivos de todas las especies, sus derivados no inducen reacciones inmunológicas de tipo celular o humoral.

Los productos basados en el ácido hialurónico no proporcionan un efecto de relleno permanente aunque duran más que las inyecciones de colágeno.

I.9.1.3.2.- DERIVADOS DEL ÁCIDO HIALURÓNICO:

El ácido hialurónico puro se degrada rápidamente, teniendo una vida media de 1 ó 2 días (Homicz y col., 2004). Los productos metabólicos derivados son catabolizados en el hígado en agua y dióxido de carbono. Los materiales de relleno derivados del ácido hialurónico se obtienen mediante la producción de moléculas más estables, generalmente por la formación de enlaces cruzados, resultando productos más resistentes a la degradación (Bergueret-Galley, 2004); sin embargo la mayor parte de ellos desaparecen antes de los 9 meses.

- **Restylane Fine Lines / Restylane / Perlane** (Q-Med Corporation, Uppsala, Sweden): son productos derivados del ácido hialurónico de origen no animal y obtenidos mediante fermentación bacteriana de líneas de estreptococos (*S. equii* o *S. zooepidemicus*), y estabilizado mediante un proceso químico de formación de enlaces cruzados (Lemperle y col., 2003). El ácido hialurónico humano tiene un peso molecular 4-5 kDa, mientras que el ácido hialurónico en Restylane tiene un peso molecular de 1×10^6 Da. Sin embargo, el 0,5% del producto (1 de cada 200 aminoácidos) está estabilizado mediante un enlace cruzado con una molécula vecina, lo que aumenta su resistencia a la degradación.

En los tres productos la concentración de ácido hialurónico es constante (20 mg/ml), lo que difiere es el tamaño de las partículas, expresado en número de partículas de gel por mililitro (Comper y col., 1978). Así el Restylane Fine Lines contiene una suspensión de 2×10^5 partículas por mililitro con un tamaño de partícula de 150 micras, el Restylane contiene 10^5 partículas por mililitro de aproximadamente 250 micras de diámetro, mientras que el Perlane tiene unas 8000 partículas de gel por mililitro de 1.000 micras de diámetro.

Estos derivados han sido aprobados por la FDA en 2003.

- **Hylaform/Hylan B** (INAMED Aesthetics, Santa Bárbara, CA): a diferencia de los anteriores, contiene 5.5 mg/ml de hialuronato, con formación de enlaces cruzados obtenidos mediante un proceso de rooster-coombs en lugar de fermentación bacteriana (Comper y col., 1978). Está contraindicado en pacientes con alergias a productos de origen aviar.
- **Hyaluderm** (LCA Pharmaceutical, Chartres, Francia): gel compuesto por un derivado de ácido hialurónico (hialuronato sódico), no estabilizado.
- **Juvederm** (Allergan Inc, Irvine, CA): es un derivado estabilizado del ácido hialurónico obtenido mediante fermentación bacteriana. Aprobado por la FDA en 2006.

I.9.1.3.3.- HISTORIA:

La necesidad de encontrar un material biológico, no inmunogénico, de mayor duración que el colágeno y que pudiese ser producido en grandes cantidades, estimuló el desarrollo de los derivados del ácido hialurónico.

I.9.1.3.4.- HISTOLOGÍA:

Desde el punto de vista histológico se ha observado que parte de los efectos del ácido hialurónico como material de relleno parecen residir en las cualidades hidrofílicas del implante. La capacidad para atraer y retener agua determina de forma significativa el aumento de volumen asociado a la inyección de este tipo de productos (Fagien, 2000; Homicz y col., 2004).

En un estudio de implantes subcutáneos de Restylane, biopsiados en diversos períodos, muestra los siguientes hallazgos histológicos (Lemperle, 2003):

- 1 mes: el ácido hialurónico aparece teñido de azul por la hematoxilina y muestra poca reacción de cuerpo extraño, siendo lentamente degradado por macrófagos.
- 3 meses: algunos macrófagos y células gigantes.
- 6 meses: algunas células gigantes.
- 9 meses: no se observan restos del producto.

En 1998, Duranti y col., publicaron los resultados del análisis histológico de implantes subcutáneos realizados en el antebrazo de cinco mujeres, observando que cuatro de los mismos aún eran claramente visibles al cabo de 52 semanas, si bien el material tenía un aspecto menos denso y más acuoso. Esta última característica del ácido hialurónico, denominada degradación isovolumétrica, permite al producto retener mayor cantidad de agua cuanto menos concentrado se encuentre (Goa y col., 1994). Ninguna de las muestras estudiadas presentaba fibrosis ni reacción de cuerpo extraño (Duranti y col., 1998).

I.9.1.3.5.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

1. *Reabsorción*: los materiales de relleno derivados del ácido hialurónico son sustancias que tienden a ser degradadas con el tiempo. La producción de moléculas estables mediante polimerización química, ha prolongado la vida media de estos productos, que oscila entre 3 y 12 meses (Wall y col., 2002) según la densidad y el tamaño de las partículas que los integran. En estudios realizados con animales se ha demostrado la persistencia de producto a los 12 meses (Piacquadio y col., 1997).
2. *Reacciones Alérgicas*: las reacciones alérgicas asociadas a los derivados de ácido hialurónico son reacciones locales por hipersensibilidad cutánea. Pueden ser de tipo inmediato o tardío (Manna y col., 1999; Friedman y col., 2002). Lowe et al describieron una incidencia de reacciones inflamatorias tardías del 0.4% en el lugar de inyección (Lowe y col., 2001). La incidencia global es menor que con el colágeno bovino, no requiriendo test cutáneo previo.

En el caso del Restylane, se ha demostrado la presencia de algunas proteínas de origen bacteriano en su composición, derivadas del proceso de producción que puede determinar la aparición de estas reacciones alérgicas (Lupton y col., 2000). Algunos autores (Manna y col., 1999) han apuntado que residuos de *Streptococcus equii* mayores de 107 microgramos por mililitro, se asocian a alergias a proteínas de esta bacteria en algunos pacientes.
3. *Granulomas quísticos*: debidos a procesos inflamatorios de tipo crónico que en ocasiones se presentan en forma de abscesos estériles (Lemperle, 2006).
4. *Atrofia grasa*: es la complicación menos frecuente, descrita por Voy en 2002 (Voy y col., 2002).

Diversos estudios han demostrado la seguridad de los derivados del ácido hialurónico como materiales de relleno (Olenius, 1998; Piacquadio y col., 1998).

I.9.1.4.- POLIMETILMETACRILATO

Existen varios materiales de relleno que incluyen en su composición la utilización de polimetilmetacrilato (Artecoll, Arteplast, Metacril, Profil) pero, de todos ellos, el más ampliamente utilizado es el Artecoll, al cual nos referiremos en este apartado. El Artecoll es uno de los materiales de relleno de origen sintético más empleados en Europa si bien no ha sido aprobado como implante por la FDA de los Estados Unidos (Lemperle y col, 2006).

I.9.1.4.1.-COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

El Artecoll (Rofill Medical International, The Netherlands) es un material de relleno bifásico, compuesto de microesferas de polimetilmetacrilato (PMMA) suspendidas en una suspensión de colágeno bovino al 3.5%. Las microesferas de PMMA se caracterizan por tener un diámetro determinado de 30 a 40 μm , de superficie totalmente lisa y sin ningún tipo de residuo. El colágeno empleado es un atelocolágeno (sin telopéptidos) libre del prión causante de la EEB (Encefalopatía Espongiforme Bovina).

La suspensión de microesferas y colágeno es estable a temperatura ambiente y debe ser mantenida en frigorífico.

I.9.1.4.2.- HISTORIA:

El PMMA fue sintetizado por primera vez en 1902 por O. Röhm (Willert y col., 1987) y fue patentado como Plexiglás en 1928. En 1940 se empleó la primera placa de Plexiglás para cubrir un defecto craneal. En 1947 se introdujo la primera prótesis de cadera y en 1960 se empleó como cemento óseo en una prótesis de cadera. En 1971 se demostró su utilidad como medio portador de antibióticos como la gentamicina, empleándose en forma de cadenas en el tratamiento de la osteomielitis (Lemperle y col., 1995).

El empleo de PMMA como material de relleno fue introducido por Lemperle en 1991, con la introducción del Arteplast (Lemperle y col., 1991) que fue reemplazado por el Artecoll en 1994.

I.9.1.4.3.- HISTOLOGÍA:

Tras la implantación, el colágeno es fagocitado por los macrófagos y es sustituido por fibroblastos y fibras de colágeno; el objetivo del Artecoll es estimular un proceso de fibroplasia y síntesis de colágeno, por lo que la FDA lo ha catalogado como un material de relleno con efecto volumen por estimulación tisular. La presencia de colágeno ya es evidente a las tres semanas tras su implantación. Según algunos autores el volumen de colágeno inyectado (80%) permanece estable en el implante al pasar los años, si bien también indican que las microesferas actúan únicamente como un andamiaje y un estímulo para la producción constante de tejido conectivo (Lemperle y col., 1991; Lemperle y col., 2003). Otros estudios exponen que inicialmente el colágeno es reabsorbido y posteriormente sustituido por otro más denso del tejido en el que se implanta. Esto último hace que los resultados del Artecoll no sean inmediatos, requiriendo varias inyecciones para conseguir la corrección completa (Hotta, 2004).

Las microesferas de PMMA son encapsuladas por tejido fibroso, asegurando un efecto de aumento permanente (Homicz y col., 2004). Las microesferas de PMMA tiene un tamaño lo suficientemente grande (30 a 40 μm) como para que no puedan ser fagocitadas por los macrófagos; además no pueden ser degradadas por enzimas al tener un grupo metilo en posición alfa que estabiliza la molécula.

Lemperle y col., publicaron en 2003 un trabajo en el que se describieron los hallazgos histológicos a lo largo del tiempo, de biopsias de piel humana en la que se realizaron implantes de Artecoll, según se indica a continuación:

- 3 días: infiltración por monocitos.
- 9 días: todos los espacios entre las microesferas están cubiertos de fibroblastos y tejido de granulación.
- 1 mes: cada microesfera está separada de la adyacente por una fina capa de material eosinofílico que representa fibras de colágeno; hay un macrófago por cada 15 esferas aproximadamente y pocas células

gigantes multinucleadas. Se evidencia la deposición de colágeno nuevo, aumentando la distancia entre las microesferas.

- 3-6 meses: se observan células gigantes aisladas que se introducen en el producto. El colágeno de transporte es reabsorbido totalmente a los tres meses, completándose los procesos de vascularización y fibroplasia inducidos por el producto.
- 9 meses: las microcápsulas formadas alrededor de cada microesfera permanecen estables, evitando el riesgo de migración del producto. El tamaño relativo de las lesiones de Artecoll permanece sin cambios, indicando que no se produce la dispersión de las microesferas en el tejido circundante o la migración a los ganglios linfáticos adyacentes (McClelland y col., 1997).

En estudios realizados con cobayas se ha descrito la eliminación transepidérmica del material, así como una dispersión del mismo en el plano subdérmico (McClelland y col., 1997).

Aracil y colaboradores en un estudio en el que se analizaron implantes en la oreja de 40 conejos, indica que no existen diferencias significativas en el volumen de los implantes a lo largo del tiempo apreciándose, desde el punto de vista histológico la presencia de histiocitos y células gigantes, con un aumento de la fibrosis a medida que aumenta el tiempo tras la implantación del producto (Aracil y col., 1997).

I.9.1.4.5.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

1. *Granulomas*: Es el efecto secundario más frecuentemente descrito (<1%) (Lemperle y col., 1998; Hoffmann y col., 1999; Rudolph y col., 1999; Alkalay y col., 2003; Hotta, 2004; Haneke, 2004). Su aparición ha sido descrita hasta seis años tras la inyección de gel (Reisberger y col., 2003).
2. *Alergias*: El Artecoll precisa test de alergia previo a su inyección. La incidencia de alergias es de aproximadamente el 0,08%.

El producto se debe de implantar en el límite entre dermis y tejido subcutáneo siendo un producto difícil de inyectar. Homicz y colaboradores describen en 2004 las posibles consecuencias derivadas de errores de inyección (Homicz y col., 2004):

1. *Blanqueado y engrosamiento de la piel:* para evitarlo se deben de inyectar entre la dermis y la grasa subcutánea.
2. *Nódulos visibles o palpables.*
3. *Dolor persistente e hinchazón.*

I.9.1.5- POLIACRILAMIDAS

I.9.1.5.1.-COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

Los geles de poliacrilamidas son polímeros de peso molecular variable (de 2×10^5 a 2×10^7 Da) obtenidos por la polimerización de la acrilamida.

Aunque los monómeros de acrilamida son neurotóxicos y teratógenos (Dearfield y col., 1995), se considera que las formas poliméricas son inertes debido a la resistencia que presentan a la biodegradación y su incapacidad para atravesar las membranas biológicas por su gran tamaño (McCollister y col., 1965; Smith y col., 1991).

Algunos productos derivados de las poliacrilamidas se han presentado como “endoprótesis” por la posibilidad que se ha descrito de retirar el implante en casos de sobrecorrección o resultados no deseados (Cheng y col., 2002).

I.9.1.5.2.-MATERIALES DE RELLENO QUE CONTIENEN POLIACRILAMIDAS:

- **Aquamid** (Contura SA, Montreux, Switzerland): contiene un 2,5% de acrylamida y 97,5% de agua no-pirogénica. La polimerización se consigue mediante la formación de enlaces de monómeros de acrilamida con N,N-metilenbisacrilamida. Actualmente su uso está aprobado en Europa, Australia, Sud-América y Oriente Medio, pero aún no ha sido autorizado por la FDA americana.

- **Bio-Alcamid** (Polymekon Research, Brindisi, Italy): hidrogel poliacrílico que contiene grupos alquilimida-amida y 96% de agua no pirogénica. Los grupos imida se caracterizan por una amida secundaria unida a dos grupos carbonilo (R-CO-NH-CO-R).
- **Formacryl/Bio-Formacryl** actualmente denominado Argiform (Bioform, Moscú, Rusia).
- **Interfall** (Interfall Co, Ucrania).
- **Outline** (ProCytech SA., Bordeaux, Francia).
- **Amazing Gel**.
- **Evolution** (ProCytech SA., Bordeaux, Francia).
- **Kosmogel** (Natimed SA, Lonay, Suiza).
- **Royamid** (Royamid, Kiev, Ucrania).

I.9.1.5.3.- HISTORIA:

Durante décadas las poliacrilamidas se emplearon en la fabricación de lentes de contacto, en investigación biomédica como material de implante y en la producción de modelos tisulares, en biología molecular para la separación de proteínas y como transportadores de hormonas y fármacos en estudios animales. En EEUU el principal uso de las poliacrilamidas está dirigido hacia la purificación de aguas subterráneas por ser un agente espesante y de suspensión de partículas. Por este último uso comenzó el interés por las poliacrilamidas en otras aplicaciones al ser un producto no tóxico para los humanos (Breiting y col., 2004).

Su uso como material de relleno comenzó en 1983 en Ucrania y China bajo el nombre de Interfall o Amazing Gel en miles de pacientes. Sin embargo se ha publicado poca literatura en la bibliografía occidental (Filatov y col., 1998).

Se ha empleado en grandes cantidades para aumento de mama, glúteos y pantorrillas, en distrofia facial y malformaciones congénitas (Cheng y col., 2002). El Aquamid ha demostrado su eficacia en el aumento de labios, corrección de pliegues nasogenianos, relleno de la depresión de las comisuras bucales, arrugas periorales y del entrecejo, así como en el modelado de los pómulos, barbilla, nariz y borde del bermellón. Aplicado en estas indicaciones

se ha descrito un grado de satisfacción alto en el 93% de los pacientes (Buelow y col., 2005).

La Agencia de Protección Medioambiental de los EEUU considera las poliacrilamidas como un producto con un potencial carcinogénico de grado medio para humanos (Lemperle y col., 2003). Su uso como material de relleno ha sido prohibido recientemente en China.

I.9.1.5.4.- HISTOLOGÍA:

Al igual que los derivados de ácido hialurónico tiene una gran capacidad para intercambiar moléculas de agua con los fluidos del tejido circundante.

En general los resultados publicados han demostrado que los derivados de poliacrilamidas son materiales de relleno permanentes o de larga duración. Sin embargo en algunos trabajos se ha demostrado la desaparición histológica a los nueve meses de implantes de 0.10 mililitros en piel humana. La duración a largo plazo parece depender de la cantidad inyectada (Lemperle y col., 2003).

Histológicamente inducen una reapuesta de cuerpo extraño moderada, con poca o ninguna fibrosis (Christensen y col., 2003) pero con macrófagos y células gigantes.

En los párrafos siguientes se reseñan los análisis histológicos publicados respecto a estos productos, utilizados como relleno en distintos tejidos:

•Aquamid

- Biopsias de piel humana (Lemperle y col., 2003):
 - 1 mes: difícil de detectar. El gel de acrilamida es transparente, no se tiñe y produce sólo una fina cápsula fibrocelular.
 - 3 meses: no se observa reacción de cuerpo extraño.
 - 6-9 meses: el Aquamid se dispersa por la piel y está rodeado de macrófagos y fibroblasto en una reacción similar a la de la silicona líquida. En pequeñas cantidades desaparece al cabo de nueve meses, siendo lentamente absorbido y sin reacción de cuerpo extraño visible.

- En tejidos animales y humanos tras períodos largos (6 meses a 10 años) se ha demostrado el crecimiento en el interior del gel de finas capas de tejido conectivo y fibras elásticas y sin formación de cápsula fibrosa (Breiting y col., 2004).
- Biopsias en tejido subcutáneo y almohadilla grasa mamaria de ratas. (Zarini y col., 2004):
 - 3 meses: material amorfo eosinofílico rodeado de una fina pared fibrosa que contiene algunos macrófagos dispersos.
 - 13 meses. la infiltración por células es más evidente y existe una pared fibrosa gruesa y moderadamente celular.

•Bio-Alcamid

- Biopsias en rata y piel humana (Ramires y col., 2005):
 - 1 semana: reacción de cuerpo extraño caracterizada por infiltración leucocítica y formación de tejido de granulación sin presencia de células gigantes.
 - 14 días: la reacción inflamatoria disminuye y se forma una cápsula de tejido conectivo alrededor del implante.
 - 3 meses. en biopsias de piel humana (Cammarota y col., 2004) se observan varias capas de fibroblastos alrededor del material. El material aparece anclado a la cápsula mediante fibras finas de colágeno sin signos de reacción inflamatoria.

I.9.1.5.5.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

1. *Granulomas*: se han publicado trabajos desde 1997 en los que se hace referencia a la aparición de granulomas tras la implantación de Interfall en China (Cheng y col., 2002).
2. *Necrosis parciales de tejido mamario y piel*.
3. *Alteraciones funcionales y dolor* (Evstatiev, 2004).
4. *Migración*: algunos autores asocian la capacidad de migración de las poliacrilamidas a la ausencia de cápsula alrededor del implante (Evstatiev,

2004). Otros autores descartan la migración como complicación de estos productos (Christensen y col., 2003).

5. *Reacción inflamatoria* (Amin y col., 2004).

I.9.1.6.- GRASA

I.9.1.6.1.-CARACTERÍSTICAS DE LA GRASA COMO MATERIAL DE RELLENO:

La grasa, al igual que otros tejidos autólogos como el cartílago o los injertos dérmicos, se considera uno de los materiales más apropiados para el aumento de partes blandas. Su naturaleza autóloga evita el riesgo de reacciones alérgicas y de bioincompatibilidad, proporcionando un resultado natural (Homicz y col., 2004).

El entusiasmo por la utilización de injertos grasos para el aumento de partes blandas se ha moderado por el alto grado de reabsorción y la impredecible pérdida de volumen asociada (Chajchir y col., 1989). La supervivencia de un injerto de grasa viene determinada por el índice de viabilidad celular del tejido implantado (Peer, 1950), según la cual el injerto graso vivo se vuelve isquémico tras ser extraído de la zona donante; en este proceso algunas células mueren y otras se mantienen viables.

El grado de supervivencia del tejido adiposo cuando se emplea como material de relleno se ve favorecido por diversos factores:

- Un manejo cuidadoso del injerto.
- La transferencia rápida a la zona donante.
- La obtención rápida de un aporte vascular: los tejidos mejor vascularizados son más apropiados para la supervivencia de los injertos de grasa. Así, el aumento adiposo en áreas donde la piel se encuentra próxima a hueso subyacente, como en la frente, la barbilla y la mandíbula da resultados poco satisfactorios (Asken, 1990). Cuando se introduce en el interior del músculo existe una mayor duración del material, debido a la rica vascularización (Colic, 1999).

- La técnica de extracción empleada: en este punto existen opiniones contradictorias. Illouz propuso que la grasa recogida mediante sistemas de aspiración potentes, se encuentra en una forma más desorganizada que el tejido adiposo original y por lo tanto puede sobrevivir en la zona receptora obteniendo sus nutrientes por ósmosis antes de la neovascularización (Illouz, 1986). Otros autores creen que la liposucción se debe de hacer usando una jeringa, mejor que por aspiración, para minimizar el trauma (Mak y col., 1994). Por último, en algunos trabajos se ha demostrado que la grasa obtenida por métodos quirúrgicos mantiene el volumen mejor que los injertos succionados (42% vs 31%) (Iononas y col., 1993).
- La zona donante: con respecto a este punto existen discrepancias entre diversos autores ya que, si bien parece ser que en diversos modelos animales la grasa obtenida de diferentes regiones anatómicas se comporta de forma distinta en distintas zonas de implantación (Kirkland y col., 1994), trabajos recientes en humanos han demostrado que la viabilidad celular de los injertos grasos no se ve condicionada por esta circunstancia (Rohrich y col., 2003).

La principal indicación de la grasa es la de corregir defectos importantes (> 100 ml) del tejido subcutáneo como en las lipodistrofias, atrofia grasa de la cara y manos asociadas a la edad o en defectos tras la liposucción (Robertson y col., 1996; Teimourian y col., 1989).

I.9.1.6.2.- HISTORIA:

El impredecible grado de supervivencia de los injertos de grasa ha convertido a este material en uno de los más ampliamente estudiados. La historia de la grasa autóloga como material de relleno en cirugía, está íntimamente ligada al estudio y desarrollo de técnicas que aumenten la viabilidad de los adipocitos, desde que se obtienen de la zona donante hasta su implantación en el tejido que se desea aumentar.

Se han realizado experimentos con grasa autóloga desde finales del siglo diecinueve: en 1893, Neuber implantó trozos de un centímetro de grasa del brazo para la corrección de defectos de la cara (Neuber, 1893). En este trabajo se concluía que aquellos fragmentos de un “tamaño mayor al de una almendra”, no eran viables.

En 1919 se empleó por primera vez la grasa en forma inyectada (Bruning, 1919), y en 1950, Peer estudió el grado de reabsorción de la grasa implantada, observando una supervivencia del 50% del injerto un año tras la implantación (Peer, 1950).

En 1976 Fischer y Fischer (Fischer y col., 1977) describieron la extracción de grasa con el celusucciotomo. Con la aparición de la liposucción en 1978 la utilización de grasa autóloga como material de relleno ganó adeptos por la facilidad para su obtención (Illouz, 1978-1979). Los primeros trabajos sobre la utilización de la grasa como material de relleno obtenida mediante técnicas de lipoaspiración hacen referencia a la utilización de la misma para la corrección de depresiones tras la liposucción (Illouz, 1986). Fournier, en 1990, fue el primer autor que aplicó estos conceptos para la corrección de defectos faciales (Fournier, 1990).

Se han realizado numerosos estudios en los que se analiza el tratamiento de la grasa obtenida por aspiración antes de ser infiltrada. Estos tratamientos incluyen la introducción y lavado en suero salino (Gormley y col., 1990) o un medio con nutrientes (Ersek, 1991), lavado y posterior concentrado (Carraway y col., 1990), lavado en insulina (Nguyen y col., 1990) o adición de factor de crecimiento de fibroblastos (Gormley y col., 1990). El tejido adiposo en presencia de insulina muestra una menor lipólisis, aumentando la formación de glucógeno y lípidos en el interior de las células grasas (Sidman, 1956).

En la década de los noventa Coleman introdujo el “aumento lipocítico intradérmico”; esta técnica incluye el procesado de la grasa extraída añadiéndole agua estéril y sometiéndola a centrifugado. Posteriormente se desecha el sobrenadante de aceite, compuesto en su mayor parte por triglicéridos, y se implanta el resto de la grasa mediante inyección (Coleman y col., 1993; Coleman, 1995). Este material contiene mayor cantidad de colágeno

que el obtenido mediante otros sistemas de procesamiento de la grasa, pudiendo ser inyectado en la dermis aumentando así además el volumen de colágeno existente a dicho nivel. El lavado, centrifugado o filtración de la grasa pretende eliminar del tejido los mediadores de la inflamación y aislar los componentes del material recolectado que se consideran ideales para la implantación (Boschert y col., 2002). Existen sin embargo autores que consideran que este método de procesamiento del tejido adiposo no aumenta las probabilidades de supervivencia del injerto (Rohrich y col., 2003).

Otras técnicas recomiendan la inyección de cantidades modestas de grasa en túneles creados con la intención de preservar el aporte nutricional del tejido huésped a la grasa transplantada (Coleman, 1997).

Hasta la fecha se considera que ningún procedimiento se ha demostrado claramente mejor que los otros (Rohrich y col., 2003), por lo que el sistema ideal de procesamiento e implantación de este material está aún por definir.

Uno de los principales inconvenientes que se dan con la utilización de la grasa como material de relleno, es la dificultad para realizar un análisis cuantitativo de grado de reabsorción del injerto en la zona receptora (Rieck, 2003). No se ha encontrado aún el modelo que permita marcar las zonas viables de forma permanente sin interferir en su metabolismo, o que permitan medir el porcentaje de los injertos viables y los necrosados (Kaminer y col., 2001; Rieck, 2003). La utilización de técnicas de imagen como la resonancia magnética (Har-Shai y col., 1999) o la tomografía computerizada (Hörl y col., 1990), no permiten actualmente la visualización en animales de experimentación pequeños o injertos de pequeño volumen, además de no ser útiles a la hora de distinguir la grasa transplantada de la existente previamente en la zona de implantación (Rieck, 2003). Por todo lo anterior se han empleado diversos modelos de análisis del grado de reabsorción de este producto, desde estudios histológicos con tinciones de hematoxilina-eosina (Nguyen y col., 1990) hasta la utilización de marcadores de superficie celular (Rieck, 2003) o análisis espectrofotométricos de las muestras (Rohrich y col., 2003).

I.9.1.6.3.- HISTOLOGÍA:

Desde el punto de vista histológico se observa en las primeras supervivencias un aumento de la celularidad en el interior del implante, de mayor intensidad en áreas de probable necrosis grasa, intercalado con zonas de adipocitos normales (Nguyen y col., 1990; Kononas y col., 1993; Rieck y col., 2003). Asimismo se identifica la presencia de quistes de aceite igualmente debidas a la necrosis de tipo isquémico asociada al transplante del tejido (Nguyen y col., 1990; Rieck y col., 2003). Al cabo de 6 meses Rieck demostró la presencia de adipocitos univacuolares o plurivacuolares sin áreas de necrosis (Rieck y col., 2003).

Nguyen, en un estudio de implantes de grasa en conejos, observa una progresiva sustitución de los adipocitos implantados por tejido conectivo, así como la presencia de macrófagos y células gigantes a lo largo de todas las supervivencias estudiadas (de 2 semanas a 9 meses). Estos hallazgos se observaron tanto en tejido adiposo obtenido por aspiración, como en los implantes de fragmentos de este material (Nguyen y col., 1990).

Según la teoría de la supervivencia celular (Peer, 1950) la grasa se vuelve isquémica al extraerla, algunas células mueren, otras sobreviven y otras se diferencian en preadipocitos. Cuando el injerto recupera su suministro de sangre, las células que sobreviven mantienen su función, mientras que las que mueren son sustituidas por fibrosis (Nguyen y col., 1990). Se ha demostrado que esta fase de recuperación celular acontece aproximadamente a los tres meses tras la implantación, con un aumento del volumen de las células viables a expensas de un incremento en el contenido de vacuolas grasas en el interior de las mismas (Rieck y col., 2003). Por otro lado, algunos autores consideran que el aumento de volumen obtenido con la grasa autóloga se debe en gran medida a la formación de nuevo colágeno, a la fibrosis y a la reacción inflamatoria asociadas (Coleman, 1995).

I.9.1.6.4.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

1- Efectos secundarios debidos a la necrosis del tejido graso:

1.1-Reabsorción y sustitución por tejido fibroso: El mayor problema de la grasa es la reabsorción y su sustitución por tejido fibroso. El grado de reabsorción es variable según numerosos autores (Tabla 1.7):

Tabla 1.7.- Grado de reabsorción de la grasa

<i>Autor</i>	<i>Año</i>	<i>% Reabsorción</i>
Nunery	1985	60%
Johnson/ Peer	1987/1950	30-80%
Chajchir	1989	30-60%
Ersek/ Boyce	1991/1994	50%
Adams	1993	33-50%
Robertson	1996	20-90%
Coleman	1999	30-40%

Para conseguir el efecto deseado, es necesario realizar varias inyecciones o bien sobre corregir el volumen deseado en el momento de la implantación.

1.2- Formación de quistes de aceite: aparecen más frecuentemente en zonas de mala vascularización y pueden persistir durante años. En el proceso de formación de quistes influyen las alteraciones de la vascularización debidas al proceso inflamatorio que se desencadena (Smahel, 1986; Billings y col., 1989; Iononas y col., 1993).

2- Complicaciones asociadas a la zona donante: dolor, infección, hematomas, serosas e irregularidades (DeVore y col., 1996).

3- Complicaciones en el lugar de implantación: riesgo de infección, hematoma, edema persistente y necesidad de inyecciones repetidas (Saray, 2003).

I.9.1.7.-POLITETRAFLUOROETILENO (PTFE)

I.9.1.7.1.-COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:

El PTFE es un material aloplástico altamente biocompatible basado en el carbón. Está compuesto por una estructura de carbono (etileno) con moléculas de flúor unidas al monómero de etileno ($\text{CF}_2\text{-CF}_2$). El organismo no tiene enzimas tisulares para romper los enlaces de flúor-carbono, por lo que es un material muy estable (Lewis y col., 1998). Hay trabajos acerca de la biocompatibilidad del PTFE desde 1949 (LaVern y col., 1949). Debido a sus propiedades biomecánicas de baja resistencia tensil (15-35 Megapascuales) y de compresión (10 MPa), ha tenido escasa utilidad en Ortopedia. Sin embargo estas propiedades lo hacen adecuado para su uso en el aumento de partes blandas.

Se han empleado derivados del PTFE para injertos vasculares, aumento de partes blandas y la rehabilitación de las cuerdas vocales. En 1993 la FDA aprobó el uso del Gore-Tex SAM (subcutaneous augmentation material) (W.L. Gore & Assoc., Inc., Flagstaff, Ariz.) como implante facial, indicado de forma específica para “rinoplastia, mentoplastia, maxiloplastia, malaroplastia, suspensión facial, reparación orbitaria, estrabismo persistente, otoplastia y defectos frontales” (Miloró, 1995).

Los derivados del PTFE están compuestos por fibras de un grosor y una longitud variable, formando una red de porosidad variable que permite la penetración de células desde el tejido circundante (Williams, 1990).

I.9.1.7.2.- HISTORIA:

El primero de los compuestos derivados del PTFE que salió al mercado fue el Gore-Tex. Inicialmente patentado por W.L.Gore en 1960, el Gore-Tex es un material sintético que se emplea en muchísimas aplicaciones. Se utilizó por primera vez como injerto vascular en 1972 (Soyer y col., 1972) y a principios de los 80 se empleó en la reparación de la pared abdominal en forma de láminas

(Jenkins y col., 1983). Desde su comercialización se han colocado más de 2 millones de injertos vasculares. Se ha utilizado también en cirugía fetal, cardiovascular, uroginecológica, fetal y reconstructiva (Robertson y col., 1996).

En 1979, Conley y Baker intentaron corregir arrugas faciales finas mediante la introducción de suturas quirúrgicas en la dermis. El material con el que se obtuvo mejores resultados fue con los hilos de Gore-Tex (Conley y col., 1979). A lo largo de las siguientes décadas, diversos autores han experimentado la utilización de Gore-Tex con fines cosméticos.

I.9.1.7.3.- DERIVADOS DEL POLITETRAFLUROETILENO:

- **Gore-Tex** (Gore-Tex, W.L. Gore and Associates, Flagstaff, AZ): Está formado por fibras muy finas de PTFE de entre 5 y 10 micras de diámetro, con un tamaño de poro de entre 10 y 30 micras (Williams, 1990), que permiten un crecimiento tisular considerable dentro del producto. Hay poca propensión a la reacción de cuerpo extraño o al rechazo. Tiende a resistir a la encapsulación y no tiene tendencia a la migración. Originariamente introducido en 1971, ha sido utilizado en multitud de aplicaciones, entre ellas, injertos vasculares, ligamentos sintéticos, parches para cirugía de corazón y hernia y más recientemente para aumento de partes blandas en cirugía plástica. En esta última, se emplea para el aumento del mentón, dorso nasal y eminencia malar, para rellenar defectos postraumáticos de partes blandas y en la técnica de suspensión frontal en casos de ptosis palpebral. También se utiliza en la reconstrucción de la parálisis facial en lugar de usar fascia lata. Algunos autores consideran que es probablemente el mejor material de relleno disponible para el relleno del dorso nasal (Costantino, 1994).
- **Soft-Form** (McGhan, Santa Barbara, CA): es una forma tubular de Gore-Tex.
- **MedPore** (Porex Surgical Inc., Newnan, GA): implantes de polietileno de alta densidad. No presenta fluoración de los monómeros de etileno.

- **Mersilene/ Supramid** (Ethicon Inc, Cornelio, GA): implantes de malla derivados de poliéster y poliamida.
- **Teflón** (DuPont Co, Wilmington, DE): partículas de PTFE en glicerina. Aprobado por la FDA como material de inyección para el aumento de las cuerdas vocales en pacientes en los que no está indicada la tiroplastia para la rehabilitación de la parálisis cordal verdadera. No está aprobado para el aumento de partes blandas por problemas de migración del producto hacia ganglios linfáticos, pulmón e hígado entre otros (Kron, 2002; Rohrich y col., 2003), así como por la dificultad para lograr una implantación precisa.
- **Proplast** (Genetis SA, Nyon, Switzerland): esponjas de Teflón y albúmina, con poros de entre 50 y 400 micras, que permiten el crecimiento de tejidos del huésped dentro del material fijándolo y sin formación de una cápsula fibrosa (Costantino, 1994).
- **Advanta** (Atrium Medical Corporation, Hudson, NH): implante de doble porosidad, con una capa externa con poros de 40 micras y una interna de 100 micras. Son implantes más blandos, en los que disminuye el índice de migración celular dentro del implante y con menor grado de reducción de su volumen (Truswell, 2002).

I.9.1.7.4.- HISTOLOGÍA:

El carácter poroso de los derivados del PTFE permite el crecimiento de tejido propio dentro del producto, estabilizándolo en el lugar de implantación. Este infiltrado se ve limitado por el tamaño de poro de 30 micras, de forma que la explantación no es difícil (Schoenrock y col., 1994; Maas y col., 2001; Panossian y col., 2004).

En estudios animales realizados por Mass y colaboradores, publicados en 1993, se observó que el Gore-Tex induce una reacción inflamatoria moderada al cabo de tres semanas, fundamentalmente en la interfase tejido-implante, con

presencia de células de inflamación aguda y escaso número de histiocitos y células gigantes de cuerpo extraño; tampoco se apreció crecimiento de tejido en el interior del implante. Al cabo de seis meses se demostró la ausencia de células de inflamación aguda, observándose un escaso número de células gigantes en la periferia del implante; en este mismo período se constató la presencia de una cápsula fibrosa fina alrededor del material y mínima invasión de tejido fibroso en su interior. En la última supervivencia evaluada, al cabo de 12 meses, se observó la persistencia de una cápsula fibrosa fina así como un ligero aumento de la invasión de tejido fibroso en el interior del implante. En este mismo período también se describe cómo en la periferia del implante existe presencia de algunos fibroblastos y células gigantes. Destaca la existencia de ciertos focos que sugieren una cierta pérdida de la integridad del producto, si bien no se encontraron en dichas zonas signos de reacción inflamatoria crónica ni fagocitosis del producto (Mass y col., 1993).

La biocompatibilidad del Gore-Tex subcutáneo ha sido comprobada en estudios tanto animales como en aplicaciones humanas. En 1983, Neel demostró en un modelo de conejo, que el implante inducía poca o ninguna acumulación de histiocitos y células gigantes en la interfase injerto-huésped y que se formaba una envoltura de tejido fibroso alrededor del implante (Neel, 1983). Otros estudios en animales han demostrado de forma concluyente la seguridad a largo plazo del Gore-Tex subdérmico (Batniji, 2002; Schoenrock y col., 1993).

I.9.1.7.5.- EFECTOS SECUNDARIOS E HISTOPATOLOGÍA:

El alto índice de extrusión (Herbst, 1999), el riesgo de infección (5%), la palpabilidad y el acortamiento de los implantes, son algunos de los problemas asociados a estos productos (Maas y col., 2001; Wall y col., 2003).

Al igual que con otros materiales de relleno se han descrito cuadros de exacerbación de herpes labial tras la implantación de derivados del PTFE en labios (Wall y col., 2002).

I.9.1.8.- OTROS MATERIALES DE RELLENO EMPLEADOS EN CIRUGÍA ESTÉTICA

I.9.1.8.1.- DERMIS:

Los primeros trabajos sobre la utilización de dermis comenzaron a principios del siglo XX (Loewe, 1913). Hinderer y Escalona utilizaron miniautoinjertos de dermis, cortados en pequeños trozos para la corrección de pequeñas arrugas faciales, líneas del entrecejo y pliegues nasolabiales. Es necesario realizar un túnel subcutáneo previo a la inyección del injerto dérmico (Hinderer y col., 1990).

Gold, en 1994, refiere un índice de reabsorción del 20%, que hace aconsejable una ligera sobrecorrección; considera igualmente que su uso está indicado fundamentalmente en el relleno de la región glabelar, arrugas profundas y aumento labial (Gold, 1994).

I.9.1.8.2.- ÁCIDO POLILÁCTICO (*New-Fill*: Biotech Industry S.A., Luxemburg; *Sculptra*: Dermik Laboratories, Berwyn, Pa).

Estos materiales de relleno están constituidos por microesferas de ácido poliláctico (PLA) en un medio de celulosa. Los cristales de ácido poliláctico, tienen un peso molecular de más de 100.000 Dalton, lo que hace que se reabsorba lentamente (Roerle y col., 2004). El ácido poliláctico es degradado por hidrólisis en monómeros que se eliminan por espiración de dióxido de carbono.

Sintetizado por primera vez en 1954, el ácido poliláctico y el poliglicólico han sido usados con seguridad en materiales de sutura (Vicryl, Ethicon, Piscataway, NJ), placas y tornillos reabsorbibles y como sistemas de liberación de drogas. Actualmente se está empleando como material de relleno en atrofas asociadas al HIV.

Induce una reacción de cuerpo extraño caracterizada por macrófagos, células gigantes y algunas fibras elásticas (Lemperle y col., 2003). El ácido poliláctico produce un aumento progresivo del volumen tisular, requiriéndose

múltiples inyecciones para lograr el efecto deseado (Jansen y col., 2006). La degradación sólo sucede cuando el peso molecular desciende por debajo de 20×10^3 Daltons, siendo completa al cabo de nueve meses (Woerle y col., 2004).

Entre las complicaciones descritas con este material se encuentran la aparición de granulomas y pápulas en la zona de implantación (Woerle y col., 2004) y menos frecuentemente atrofia grasa (Voy y col., 2002).

I.9.1.8.3.- POLIVINILO (Evolution: Procytech Sa., Bordeaux, Francia; Bion-Blue: Polymekon, Brindisi, Italia):

Son productos formados por un polímero reticulado derivado del alcohol polivinílico en un gel de poliacrilamida. Se caracteriza por ser un material de reabsorción aparentemente lenta con reacciones tisulares similares a las del Aquamid. En algunos trabajos se resalta de este material la poca reacción tisular que provoca y el ser visible al menos al cabo de nueve meses (Lemperle y col., 2003).

I.9.1.8.4.- MATERIALES COMPUESTOS POR LA SUSPENSIÓN DE DOS SUSTANCIAS:

a) Suspensiones de Colágeno-Polimetilmetacrilato: (Artecoll, Arteplast, Metacril, Profil). La fagocitosis por parte de los macrófagos se evita debido al gran tamaño de las microesferas (30-40 μm). Requiere test de alergia. La aparición de granulomas o nódulos han sido descritos hasta seis años tras la inyección del gel (Reisberger y col. 2003). Algunos autores consideran que la ventaja de utilizar el colágeno como medio de suspensión para materiales de relleno es que mantiene las partículas o microesferas separadas durante semanas tras la implantación (Lemperle y col., 2003).

b) Suspensiones de Ácido Hialurónico y Polihidroxietil metacrilato/ Etilmetacrilato (DermaLive/DermaDeep: Dermatech SARL, Sant-Claude, Francia): Son productos derivados de la producción de lentes intraoculares que emplean ácido hialurónico en vez de colágeno en la suspensión, reduciendo el

riesgo de hipersensibilidad. La diferencia entre ambos productos estriba en que el Dermadeep se emplea fundamentalmente para el implante en dermis profunda y epiperióstica.

Son productos generalmente poco empleados debido en parte a la dificultad para su inyección, así como por la incidencia relativamente alta de granulomas en los tejidos expuestos a estos materiales (Reisberger y col., 2003).

Algunos autores indican que este producto muestra una baja reactividad tisular (Lemperle y col., 2003).

c) Suspensión de Silicona-Polivinilpirrolidona (Bioplastique: Uroplasty inc. Minneapolis, MN): es un derivado de silicona al que ya hemos hecho referencia en el apartado de descripción de dicho material.

d) Suspensión de Ácido Poliláctico y Manitol/Carboximetilcelulosa (New-Fill: Biotech Industry S.A., Luxemburg): compuesto integrado por microesferas de ácido poliláctico y manitol o carboximetilcelulosa, un material biodegradable del que están hechas las suturas quirúrgicas.

I.9.2.- MATERIALES DE RELLENO DE USO MÁS FRECUENTE EN PRECEDIMIENTOS REPARADORES Y ESTÉTICOS:

I.9.2.1.- CARTÍLAGO

- Cartílago autólogo: uno de los biomateriales más fiables y más comúnmente usado para aumento del dorso nasal, fundamentalmente el septal y el auricular. También como injerto de la punta nasal para aumentar la definición del lóbulo nasal. La extrusión es rara. Frecuencia de infección del 0,05% cuando se usan para el dorso nasal. A 4°C se mantiene la viabilidad durante 6 semanas. Si se deja el pericondrio puede ayudar a la revascularización. El cartílago nasal y el costal son de tipo hialino, mientras que el auricular es de tipo elástico (Boyce y col., 1992).

- Cartílago homólogo.

- Cartílago heterólogo de origen bovino: no recomendado, rechazo casi inmediato (Boyce y col., 1992).

I.9.2.2.- HUESO

Hueso autólogo: para dorso nasal, mentón, y aumento de hueso facial. Tal vez el más usado para reconstrucción de la mandíbula (Hinderer y col., 1990).

I.9.2.4.- FASCIA

- Fascian (Fascia Biosystems, Beverly Hills, CA). Fascia lata liofilizada derivada de cadáveres. Requiere rehidratación 30 minutos antes; cada jeringa contiene 80 mg de material. Los estudios histológicos han demostrado que una vez que el tejido ha sido degradado, es reemplazado por colágeno propio, llamándose a este proceso recolagenización (McGregor y col., 1974).
- Injertos de fascia: Más frecuentemente empleada la fascia temporal. Ha demostrado buena integración y un bajo grado de reabsorción (Diniz, 1996).

I.9.2.5.- DERIVADOS DÉRMICOS

Son materiales de relleno originariamente creados con fines reconstructivos, cuyo uso se extendió posteriormente en procedimientos estéticos.

- **Alloderm** (LifeCell Corp., The Woodlands, TX): injerto dérmico acelular en forma de láminas, obtenido mediante el procesamiento de piel de banco de tejidos. Empleado desde 1992, inicialmente fue desarrollado para la cobertura de quemaduras de espesor completo y en cirugía oncológica (Wainwright y col., 1997).

En su elaboración se eliminan las células de la dermis y epidermis evitando así el riesgo de rechazo inmunológico por parte del receptor.

Una vez implantado proporciona una matriz acelular de elementos dérmicos (colágeno, elastina y glucosaminoglicanos) que permite la invasión y proliferación de fibroblastos en el implante, produciendo un efecto de relleno más duradero (Homicz y col., 2004). Se ha descrito la aparición de herpes labial con la utilización de este material en labios (Homicz y col., 2004).

- **Cymetra** (LifeCell Corp., The Woodlands, TX): es una forma micronizada, inyectable del Alloderm, obtenido por criofracturación de la dermis y rehidratado con 1 ml de lidocaína. (Costantino y col., 2001). Proporciona una matriz acelular de elementos dérmicos en la que los componentes celulares de la epidermis y la dermis que pueden inducir una reacción inmunológica de rechazo son eliminados. Contiene colágeno, elastina y glucosaminoglicanos (Ellis y col., 2001).

I.9.2.6.- IMPLANTES ALOPLÁSTICOS BASADOS EN EL CALCIO

Son compuestos de fosfato cálcico empleados esencialmente en el aumento de partes óseas, siendo limitado su uso en tejidos blandos. Son materiales bioactivos con los tejidos huéspedes vecinos, lo que permite el sobrecrecimiento de hueso sobre él o osteoconducción; no es osteogénico pues no permite la formación de hueso a no ser que esté en contacto con él. Como explicaremos a continuación, estos derivados encuentran su utilidad fundamental dentro del campo de la cirugía oculoplástica.

La mayor parte de los implantes de fosfato cálcico se usan en forma de hidroxiapatita. La hidroxiapatita compone el 60-70% del esqueleto calcificado. Se obtiene de forma sintética desde hace 35 años y varía desde gránulos hasta cemento y desde formas densas a bloques porosos. Hay hidroxiapatitas cerámicas y no cerámicas. Las hidroxiapatitas cerámicas en gránulos tienen potencial de migración hasta que no están rodeadas de un tejido osteofibroso y carecen de integridad estructural intrínseca. Las “no cerámicas”, como el cemento de hidroxiapatita, se asocian a reactantes que las convierten en hidroxiapatita sólida en el organismo; se han usado para aumentar los tejidos

blandos de la órbita tras traumas del suelo de la misma. Se emplean en la implantación de prótesis oculares osteointegradas, así como en la corrección del enoftalmos, hipoftalmos y las pérdidas de tejido en la región frontotemporal tras craneotomías. Más recientemente la hidroxiapatita cálcica se ha empleado de forma inyectable para la incontinencia urinaria por estrés y la parálisis de cuerdas vocales (Aria y Coaptite) (Sklar y col., 2004; Mayer y col., 2001) y como marcador de tejidos blandos en procedimientos radiológicos por ser un material radiopaco (Lemperle y col., 2003).

- Derivados del Calcio empleados en procedimientos estéticos (*Radiante FN*: Bioform Inc., Franksville, WI; *Radiesse*: Bio-Form Medical, Oosterhout, The Netherlands).

Son considerados materiales semipermanentes al igual que otros productos (Aquamid, Dermalive, New-Fill, Reviderm). Compuestos en un 35% por microesferas de hidroxiapatita cálcica (de un tamaño que oscila entre 25 y 45 μm) en un gel que contiene agua, glicerina y carboximetilcelulosa sódica (Tzikas, 2004).

Desde el punto de vista histológico algunos autores los consideran un material altamente biocompatible que produce poca reacción tisular y con mínima reacción de cuerpo extraño. Histológicamente no produce un entramado para el crecimiento de tejido huésped; debido a esta falta de tejido de granulación, no son útiles las inyecciones de corticoides en los nódulos de Radiante (Lemperle y col., 2003).

Sin embargo en otros trabajos se han descrito diversas complicaciones como la tendencia al endurecimiento con el tiempo, la extrusión del material o la presencia de nódulos, más frecuentes en los labios (Sklar y col., 2004; Tzikas, 2004). La presencia de estos nódulos puede estar asociada a la inyección intradérmica del material (Sklar y col., 2004). También se ha descrito la asimetría, el blanqueamiento cutáneo y una sobrecorrección permanente cuando se inyecta muy superficialmente (Jacovella y col., 2006).

El uso de la hidroxiapatita cálcica está aprobado en la UE; en EEUU la FDA autorizó su uso como marcador de tejidos blandos en procedimientos radiológicos, incontinencia urinaria por stress, parálisis de las cuerdas

vocales y en defectos orales y maxilofaciales desde el 2004; cualquier otro uso es considerado “off-label”.

I.9.2.7.- DEXTRANOS (Reviderm: Rofil Medical International, Breda, The Netherlands):

Su uso es conocido desde hace muchos años en el tratamiento de las heridas; además los dextranos se emplean en la elaboración de columnas de cromatografía para separar proteínas. Está constituido por moléculas de dextrano de 40.000 a 80.000 Da vehiculizadas en un medio de ácido hialurónico (Lemperle y col., 2003).

I.9.3.- FUTUROS MATERIALES DE RELLENO

I.9.3.1.- CÉLULAS MADRE

Las técnicas de regeneración basadas en el uso de células madre pluripotenciales, abren una línea de investigación muy esperanzadora en el desarrollo de futuros materiales de relleno. Los estudios preclínicos y las series clínicas realizadas hasta ahora, muestran que las células madre derivadas de adipocitos ofrecen la posibilidad de lograr finalmente el principio de sustituir tejidos con tejidos iguales (“like with like replacement”) (Moseley y col., 2006).

I.9.3.2.- SUSTITUTOS CUTÁNEOS OBTENIDOS POR BIOINGENIERÍA

Este grupo de productos está integrado por materiales que inicialmente fueron ideados para su utilización en cirugía reparadora en la cobertura de defectos cutáneos y mucosos. Algunos de los productos de esta categoría como el Alloderm, al que nos hemos referido dentro del apartado de derivado dérmicos, han sido empleados en el aumento de partes blandas con fines estéticos (Homicz y col., 2004). Además del Alloderm pertenecen a este grupo:

- Epicel (Genzyme Tissue Repair Corp., Cambridge, MA)

- Integra (Integra Life Sciences Corp., Plainsboro, NJ)
- Dermagraft (Advanced Tissue Science, Inc., La Jolla, CA)
- Apligraf (Novartis Pharmaceuticals Corp., East Hanover, NJ)

I.9.3.3.- TEJIDOS FETALES Y PLACENTARIOS

Los tejidos fetales fueron propuestos para su utilización como materiales de relleno por su supuesta hipoantigenicidad, en estudios iniciados por Paul Niehans, en el marco de la denominada “terapia celular” (Kuettner, 1977). En 1975 Hinderer empezó un estudio clínico con voluntarios pero se producía una reacción local considerable, que aumentaba al añadir suspensiones de placenta (Hinderer y col., 1990) por lo que su estudio como material de relleno fue frenado.

I.9.3.4.- TEJIDOS AUTÓLOGOS

Existen publicaciones en las que se realizaron estudios experimentales ensayando la utilidad de tejidos autólogos distintos a los mencionados anteriormente, entre los que se encuentran las uñas (Taylor y col., 1998) o el pelo (Kaakedjian y col., 1997).

I.9.4.5.- AGAROSA

La agarosa es un ficocoloide purificado derivado del agar, producto que a su vez se obtiene fundamentalmente de las algas rojas (clase Rhodophyceae). El agar se puede dividir en dos componentes: la agarosa y la agarpectina, siendo la primera un gelificante mucho más potente que la segunda. Desde el punto de vista químico, la agarosa está compuesta por una mezcla compleja de polisacáridos, fundamentalmente galactósidos, formando un polímero lineal de unidades alternantes de D-galactosa y 3,6-anhidro-L-galactosa.

La agarosa es una sustancia que, si bien fue originariamente concebida para ser utilizada con fines muy diferentes, ha sido recientemente estudiada de forma experimental mediante análisis de la respuesta tisular a implantes subcutáneos de dicha sustancia en ratas. Los resultados de la respuesta tisular a dicho material permiten considerar a la agarosa como un material biocompatible y, por tanto, un producto potencialmente útil como material de relleno (Fernández-Cossío y col., 2006).

La agarosa se ha empleado desde hace muchos años como ingrediente en la industria alimentaria por sus propiedades estabilizantes, aglutinantes, coagulante de impurezas o saborizantes, cumpliendo las especificaciones del FCC Americano (Food Chemicals Codex) (FDA, 2003).

La agarosa se emplea ampliamente en los laboratorios de bioquímica siendo frecuente su utilización en la elaboración de geles para técnicas de PCR y análisis electroforético de fragmentos de ADN y ARN. Se considera una sustancia biocompatible (Margen y col., 1986; Sittinger y col., 1999) y no tóxica (Tashiro y col., 1997) que carece de efectos sobre el crecimiento y la viabilidad celular (Jiang y col., 2004), presentando por añadidura una buena hemocompatibilidad (Harstick y col., 1979; Losgen y col., 1978). Por todo lo anterior se ha convertido en una sustancia de uso habitual dentro de los campos de la bioingeniería (Sittinger y col., 1999; Tashiro y col., 1997; Jiang y col., 2004; Rotter y col., 1998; Kelly, 2004), la terapia génica (Jeyanthi y col., 1990) y en la producción de sistemas de destoxificación extracorpórea (margen y col., 1986).

Como se indica en otros apartados de este trabajo, existen productos que han sido empleados como medios de soporte para procedimientos de laboratorio mencionados, como los geles de poliacrilamida (Pacini y col., 2003; Christensen y col., 2003) o los dextranos (Eppley y col., 1994; Lemperle y col., 2003) que actualmente han encontrado un lugar dentro del campo de los materiales de relleno.

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad se considera la restitución de volumen como la primera línea para el rejuvenecimiento facial, previo o asociado al empleo de técnicas quirúrgicas. Esto ha hecho que la investigación y el desarrollo de nuevos productos útiles para su uso como materiales de relleno haya aumentado de forma extraordinaria en los últimos años, hasta el punto de que hoy en día existe una amplia gama de rellenos donde elegir, agrupados en diversas clasificaciones según su origen, naturaleza físico-química, duración o técnica requerida para su implantación.

El conocimiento de este tipo de técnicas es hoy en día y más que nunca, uno de los temas de mayor actualidad para los cirujanos estéticos. El número de procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos (no invasivos o mínimamente invasivos) realizados con fines estéticos en todo el mundo, ha aumentado de forma constante a lo largo de las últimas décadas. Este número alcanzó en el 2005 y sólo en los Estados Unidos la cantidad de 12 millones, de los cuales 9,2 millones correspondieron a procedimientos no quirúrgicos, en su mayoría aumento de partes blandas con materiales de relleno e inyección de toxina botulínica tipo A (Rohrich, 2006).

A pesar de ser considerado un procedimiento mínimamente invasivo y técnicamente menos exigente que otros métodos de rejuvenecimiento facial, el uso de los materiales de relleno no está exento de efectos adversos, lo que hace indispensable que los especialistas que empleen estos productos tengan la formación académica y los conocimientos adecuados acerca de las características, técnicas de utilización y posibles complicaciones de los mismos. La utilización de estos productos, fundamentalmente los de más larga duración, llevan asociada la responsabilidad de una utilización más precisa en lo que se refiere a la cantidad, plano de implantación, zonas de mayor eficacia del producto y tratamiento de las complicaciones en el caso de que surjan. A lo largo de la historia de evolución de los implantes de partes blandas, se han descrito diversas indicaciones para cada uno de ellos, con ventajas e inconvenientes, así como efectos secundarios de diversa consideración asociados a su utilización. Algunos materiales de relleno han ido cayendo en desuso con el surgimiento de nuevos productos considerados biocompatibles,

o han sido totalmente desechados por parte de las autoridades sanitarias. Actualmente ninguno de los productos empleados puede ser considerado como el material de relleno ideal. (Bergueret-Galley, 2004; Lemperle, 1991; Christensen, 2003; Niechajev, 2000; Pollack, 1990).

Los organismos responsables del control y autorización de los materiales de relleno son, en Estados Unidos la FDA (Food and Drug Administration), y en Europa la Notified Bodies of the European Community. Este último es el responsable de asignar la marca CE a todos aquellos productos que cumplan los criterios de seguridad establecidos por las diferentes directivas de la comunidad europea. Al contrario que la FDA, el Notified Bodies of the European Community, no requiere estudios animales o clínicos para el registro y aprobación de los materiales de relleno o implantes artificiales de implantación quirúrgica (Lemperle 2003). La marca CE controla sólo la buena práctica de manufactura (GMP- Good Manufacturing Practice) de un material inyectable pero no garantiza al máximo su seguridad biológica. Como consecuencia de lo anterior, muchos de los productos empleados actualmente en Europa y el resto del mundo no han sido autorizados en los Estados Unidos. La FDA sólo ha aprobado para su uso como material de relleno con fines estéticos los derivados del colágeno, los del ácido hialurónico obtenidos mediante la técnica NASHA (Non-animal stabilized hylauronic acid), el ácido poliláctico y la hidroxiapatita cálcica (estos dos últimos con restricciones) (Lombardi, 2004). En Noviembre de 1997 se añadió una cláusula al decreto federal de alimentación, fármacos y cosmética por la que algunos productos comercializados legalmente y aprobados por la FDA, pudiesen ser administrados para otros procedimientos distintos a los inicialmente descritos en el prospecto, siempre y cuando el paciente sea previamente informado antes de dar su consentimiento; esto es lo que se denomina uso OFF-LABEL de un producto aprobado por la FDA (Tabla 2.1). No existe regulación en lo que se refiere al uso de los materiales autólogos en el aumento de partes blandas.

Tabla 2.1.- Listado de productos aprobados por la FDA con fines cosméticos.

PRODUCTO	APROBADO POR LA FDA	INDICACIONES	USO COSMÉTICO "OFF-LABEL"
Acido Hialurónico			
- Juvederm	Sí (2006)		
- Restylane	Sí (2003-2006)	Arrugas alrededor de nariz y boca	Otras aplicaciones fuera de las indicadas por la FDA
- Captite			
- Hylaform			
- Hylaform plus			
- Perlane	No		
Colágeno Bovino	Sí (1981)	Cualquiera	-
Hidroxiapatita Cálcica			
- Radiesse	Sí (2003)	Parálisis de cuerdas vocales, marcador radiológico de tejidos, defecto de volumen oral/ maxilofacial	Otras aplicaciones fuera de las indicadas por la FDA
Ácido Poliláctico			
- Sculptra	Sí (2004)	Lipoatrofia facial en VIH+	Otras aplicaciones fuera de las indicadas por la FDA

La falta de estudios clínicos y experimentales previos a la comercialización de los materiales de relleno, debe de ser considerado como una de las principales contribuciones a la aparición de reacciones adversas no sospechadas previamente. Los efectos secundarios más graves asociados a los materiales de relleno aparecen a medio y largo plazo y se deben a la presencia de una reacción inflamatoria crónica en los tejidos. La evaluación histológica de la respuesta tisular ayuda a predecir el grado de biocompatibilidad y utilidad potencial de una determinada sustancia como material de relleno (Milojevic, 1982), aportando información acerca del grado de estabilidad o degradación de la misma en los tejidos (Jansen, 1994).

Teniendo en cuenta las consideraciones previas como punto de partida, hemos desarrollado un trabajo en el que evaluamos el comportamiento de diversos materiales de relleno basándonos en los siguientes objetivos:

- 1- Desarrollar un modelo experimental en ratas que nos permita realizar un estudio comparativo entre diversos materiales de relleno de partes blandas, determinando su biocompatibilidad en base a la interacción entre implantes subcutáneos de estos productos y los tejidos.
- 2- Establecer un protocolo de análisis de la respuesta tisular frente a los materiales de relleno desde el punto de vista cualitativo y cuantitativo, aplicable a todas las sustancias estudiadas, que permita estructurar su comportamiento tanto macroscópica como microscópicamente.
- 3- Determinar la presencia o ausencia de reactividad tisular frente a los materiales de relleno empleados mediante evaluación por microscopía óptica a lo largo de diversos períodos de tiempo.
- 4- Valorar los cambios citohistológicos que sufren los implantes determinando las estirpes celulares más frecuentemente implicadas.
- 5- Interpretar, en base a la cantidad y a los tipos celulares presentes, qué productos inducen mayor respuesta inflamatoria tanto aguda como crónica.
- 6- Analizar las características de los tejidos próximos a los implantes considerando las modificaciones del estrato subcutáneo de la piel en referencia a grupos control y placebo.
- 7- Comparar el comportamiento de los diversos materiales de relleno en función de su naturaleza, orgánica o sintética, valorando la respuesta que ambos grupos inducen en los tejidos expuestos.
- 8- Estudiar el grado de reactividad tisular de la Agarosa en comparación con otros productos comercializados, sometiendo a consideración su uso como material de relleno.
- 9- Establecer paralelismos entre los resultados obtenidos del estudio experimental de estos productos y la aplicación clínica de los mismos.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1.- ANIMALES

Hemos utilizado un total de 272 ratas machos Sprague Dawley, adultas y con un peso comprendido entre 250 y 300 gramos.

La elección de dicho animal para nuestro trabajo se fundamenta en que los 2 años y medio de vida media de una rata de laboratorio nos permiten diseñar unos períodos de supervivencia equivalentes a 8 meses, 2,5 años, 10 años y 20 años respectivamente, en un ser humano con vida media de 75 años (Zarini y col., 2004). Debido a que los mecanismos de la inflamación crónica y la formación de granulomas no son totalmente conocidos, se considera que los hallazgos histológicos en períodos de corta duración no son útiles a la hora de precedir el riesgo de reacciones tardías frente a los materiales de relleno (Graivier y col., 2006). Se considera que los períodos largos son más representativos de los efectos a largo plazo en humanos (Aida y col., 1992).

Las condiciones de vida, dieta, fotoperiodicidad y dimensiones del habitáculo, fueron las mismas para todos los animales; se mantuvieron en un medio con ciclos día/noche de 12 horas con ingesta de alimento estándar para animales de laboratorio y de agua “ad libitum”.

El manejo de los animales se realizó cumpliendo los principios del ICLAS (International Council for Laboratory Animal Science) y la Directiva 86/609/EEC sobre Protección de Animales utilizados para Experimentación y otros Fines Científicos.

- Distribución de Grupos:

Los animales se distribuyeron inicialmente en dos grupos, uno control y otro experimental, constituidos por 24 y 248 ratas respectivamente.

Las ratas del grupo control no fueron intervenidas, siendo reservadas para el estudio de las características morfológicas y morfométricas de los tejidos normales.

El grupo experimental se compone a su vez de 11 subgrupos, que se corresponden con el número de productos de relleno implantados, y el grupo placebo compuesto por ratas a las que se les infiltró suero salino.

Los animales de cada grupo y subgrupo fueron sacrificados en lotes de 6 animales a intervalos de 1 semana, 1 mes, 4 meses y 8 meses, correspondientes a los períodos evaluados. En el caso de los animales infiltrados con Hyaluderm, debido a las características de la reactividad tisular que induce este material, los períodos establecidos fueron de 48 horas, 1 semana, 1 mes y cuatro meses (Tabla 3.1.).

Tabla 3.1.- Distribución del grupo experimental por productos.

Grupo				Sup / Anim¹	Nº Animales
CONTROL				4/6	24
EXPERIMENTAL				72/6	264
Sub-Grupo	Producto	Total	Sup / Anim¹		
1	Agarosa	24	4/6		
2	Aquamid	24	4/6		
3	Artecoll	24	4/6		
4	Bio-Alcamid	24	4/6		
5	Colágeno	24	4/6		
6	Gore-Tex	24	4/6		
7	Grasa	24	4/6		
8	Perlane	24	4/6		
9	Placebo	24	4/6		
10	Silicona	24	4/6		
11	Hyaluderm	24	4/6		
Total de Animales Empleados					288

¹ Sup/Anim: número total de supervivencias/animales por supervivencia

III.2.- MATERIALES DE RELLENO

En la realización de nuestro trabajo hemos empleado 10 materiales de relleno, 5 de origen orgánico y 5 de origen sintético.

- De Origen Orgánico:

- Grasa autóloga: la grasa es considerada como el material autólogo por excelencia. Es el primer material de relleno descrito en la bibliografía (Neuber, 1893) siendo aún hoy en día ampliamente utilizada y objeto de numerosos estudios (Homicz y col., 2004; Rohrich y col., 2004). El

tejido empleado en nuestro trabajo se corresponde con el denominado por otros autores tejido graso mamario (Zarini y col., 2004).

- Colágeno: Zyderm 1, proporcionado por Inamed Corp, Arklow, County Wicklow, Irlanda. El colágeno bovino ha sido el producto más empleado en las últimas décadas (Krauss, 1999), siendo además el material de referencia con el que se compara cualquier otra sustancia que se quiera emplear como producto de relleno inyectable (Larrabee y col., 1993; Ersek, 1991).
- Acido Hialurónico:
 - Restylane Perlane, proporcionado por Q-Med AB, Uppsala, Suecia. Los derivados modificados del ácido hialurónico son actualmente los materiales de relleno más empleados según la American Society for Aesthetic Plastic Surgery (ASAPS), por delante del colágeno.
 - Hyaluderm, proporcionado por LCA Pharmaceutical, Chartres, Francia. Es uno de los primeros ácidos hialurónicos comercializados. A diferencia del anterior es un derivado no modificado del ácido hialurónico.
- Agarosa: Agarose Nusieve 3:1[®], proporcionada por Cambrex Bio Science Rockland Inc, Rockland, Maine, Estados Unidos. La agarosa Nusieve 3:1 (standard-melting-temperature agarose) está constituida por una mezcla de 3 partes de agarosa NuSieve y 1 de agarosa SeaKem B (ambas de Cambrex Bio Science Rockland Inc, Rockland, Maine, USA). Es un producto biocompatible que, según nuestra revisión bibliográfica, nunca había sido estudiado como material de relleno. La Hoja de Datos de Seguridad (Material Safety Data Sheet) de este producto, indica que es una sustancia estable y no carcinogénica que no entra dentro del grupo de productos tóxicos o peligrosos establecido por las normativas SARA 302, 311/312, 313 de los Estados Unidos, ni cumple los criterios de la directiva 1999/45/EC para ser incluido dentro del grupo de preparaciones peligrosas.

- De Origen Sintético:

- Poliacrilamidas:

- Aquamid, proporcionado por Contura SA, Montreux, Suiza.
- Bio-Alcamid, proporcionado por Polimekon Resarch, Brindisi, Italia.

Son dos materiales de relleno ampliamente utilizados en Europa en la actualidad, aún no aprobados por la FDA americana (Lemperle y col., 2003).

- Silicona: Silicona de grado médico PMS 350 proporcionada por Vikomed, Berlín, Alemania. El producto de origen sintético más empleado en el mundo a lo largo de la historia en el aumento de partes blandas. Uno de los productos con los que existe mayor controversia entre diferentes autores (Orentreich y col., 1988; Maas y col., 2001) ha sido autorizado (Mak y col., 1994) y posteriormente desautorizado por las diversas administraciones sanitarias europea y norteamericana (Webster y col., 1984).
- Polimetilmetacrilato: Artecoll, proporcionado por Rofill Medical International, Países Bajos. Es un material sintético de tipo bifásico, compuesto por colágeno y polimetilmetacrilato.
- Politetrafluoroetileno: Gore S.A.M., proporcionado por Gore-Tex, W.L. Gore and Associates, Flagstaff, Arizona, Estados Unidos. Es un material de relleno empleado con fines estéticos que a diferencia de la mayor parte de los materiales de relleno, no se comercializa en forma de gel, requiriendo una técnica de implantación específica.

III.3.- PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO DE IMPLANTACIÓN

Los productos fueron implantados a nivel de la región interauricular por considerar que ésta nos ofrece unas referencias claras a la hora de observar los cambios morfológicos macroscópicos, al tiempo que permite medir con fiabilidad el grado de migración del implante en caso de que lo hubiere. La zona de implantación es la misma en todos los subgrupos del grupo experimental.

Una vez anestesiados los animales mediante administración intraperitoneal de 100 mg/kg de pentotal sódico al 5%, rasurada la piel y pincelada con una solución de povidona iodada, se procedió a la implantación del producto de relleno utilizando en cada caso la técnica quirúrgica correspondiente:

- Materiales Inyectables (Agarosa, Aquamid, Artecoll, Bio-Alcamid, Colágeno, Perlane, Silicona, Hyaluderm).

Se implantaron 0,10 ml de cada producto o suero fisiológico (grupo Placebo) a nivel subcutáneo en la región interauricular. Con el fin de garantizar que el implante se encontraba a la profundidad adecuada, se levantó un pellizco de piel en la zona del implante, insertándose la aguja en la base del pliegue creado y soltando la piel antes de la inyección del producto.

En el caso de la agarosa se preparó un gel al 1.5% bajo condiciones estériles siguiendo las instrucciones del fabricante. El resultado fue un gel transparente, homogéneo, estable a temperatura ambiente y fácilmente inyectable mediante una aguja de 27G.

- Materiales No Inyectables (Gore-Tex, Grasa).

La implantación de ambos materiales se realizó mediante disección roma de un bolsillo subcutáneo que permitiese su introducción “a distancia” de la zona de la herida.

- Gore-Tex: el Gore-Tex fue implantado en fragmentos de aproximadamente 3 x 3 mm.
- Grasa: tras incisión a nivel de la región inguinal, se obtuvieron fragmentos de aproximadamente 0,50 gramos correspondientes a la almohadilla grasa mamaria. Su implantación se realizó tras lavado de los mismos en suero salino fisiológico.

III.4.- OBTENCIÓN Y PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Transcurridos los períodos de supervivencia correspondientes (1 semana, 1 mes, 4 meses y 8 meses), los animales de cada grupo fueron sacrificados mediante sobredosis de anestésico. Seguidamente se realizó la escisión de un fragmento de los tejidos de la región interauricular incluyendo el implante y la piel circundante.

Para el procesado histológico se siguió la técnica estándar de inclusión en parafina. Los fragmentos de tejido se fijaron durante 24 horas mediante inmersión en formol al 10% en solución tamponada; una vez lavados en el tampón correspondiente, se procedió al deshidratado en soluciones alcohólicas de concentración creciente, aclarado en toluol e inclusión en paraplast (Paraplast Plus®: Sherwood Medical Co., St. Louis, Mo., Estados Unidos).

Las secciones histológicas se realizaron en un microtomo de parafina, con un espesor de 6 μ m. y perpendiculares a la superficie cutánea. Se secaron durante la noche a 37 ° C y, una vez desparafinadas e hidratadas, se colorearon con Hematoxilina-Eosina.

Tinción con Hematoxilina –Eosina:

- Hematoxilina de Harris diez minutos.
- Agua corriente diez minutos.
- Eosina cinco minutos.
- Deshidratamos en alcoholes a concentración creciente:
 - 96 °..... 2 baños de 3 minutos.
 - 100 °..... 2 baños de 3 minutos.

- Aclarado en Xilol: 2 baños de 3 minutos.
- Montado con Permout.

Finalmente, las preparaciones fueron observadas y se tomaron microfotografías digitales empleando un microscopio Olympus BX40 acoplado a un sistema de microfotografía; las imágenes así obtenidas se procesaron mediante el programa de análisis de imagen Microimage (MediaCybernetics, Silver Spring, Md., USA).

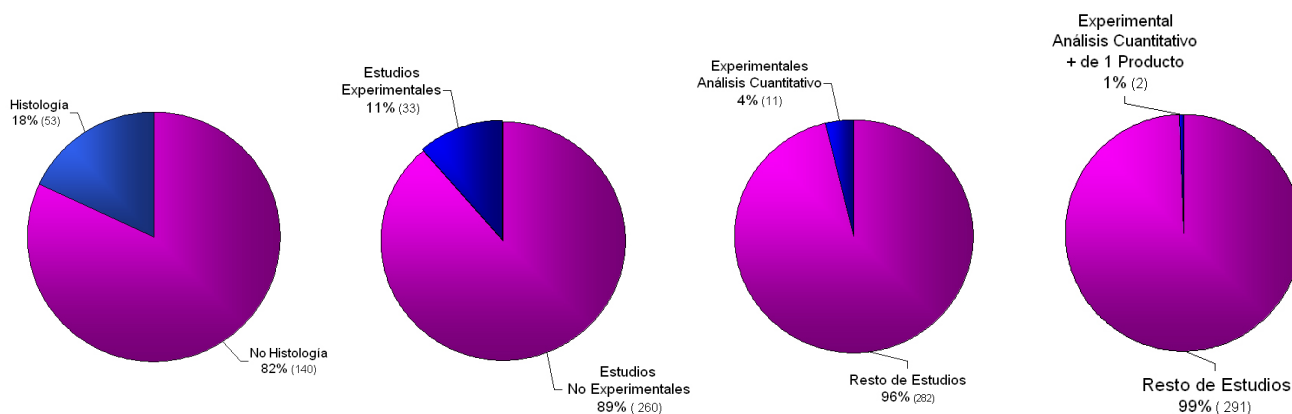
III.5.- OBSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS Y CRITERIOS PARA LA OBJETIVACIÓN DE RESULTADOS

Tras la revisión de la bibliografía existente sobre las respuestas titulares a los materiales de relleno, en lo que se refiere al análisis y la valoración de los cambios macroscópicos, estructurales, tipos de respuesta y características histológicas de las mismas, no hemos encontrado ningún método que por sí solo cubriera todos los aspectos observados en nuestro trabajo. Ello nos obliga a la elaboración de un sistema de criterios de valoración que incluya parte o la totalidad de los métodos utilizados por otros autores, así como observaciones propias no encontradas en la literatura, que consideramos útiles y necesarias para la interpretación de los resultados (Tablas 3.2 y 3.3).

De todos los trabajos publicados hasta la fecha en los que se analizan los distintos materiales de relleno en cualquiera de sus aspectos, hemos observado que, en su mayor parte, estos corresponden a estudios en los que se hace una valoración clínica de los resultados obtenidos con los distintos productos disponibles en el mercado para el aumento de partes blandas. Sólo en un 18 % de los trabajos (53 de 293) se hace alguna referencia a aspectos histológicos de reactividad tisular frente a los distintos productos, describiendo con frecuencia aspectos histopatológicos asociados a reacciones adversas derivados de la inyección de dichos productos. Frente a estos trabajos de índole clínica, el número de estudios experimentales realizados en los que se analicen las respuestas de los tejidos expuestos a diversos materiales de

relleno, es aún menor, en torno al 12 % (33 de 293) de la bibliografía revisada. La mayor parte de estos trabajos evalúan un solo producto, valorando el tipo de respuesta y características histológicas desde un punto de vista exclusivamente descriptivo, sin incluir ningún tipo de medición del componente inflamatorio o de la respuesta tisular que induce el implante; sólo hemos encontrado este último tipo de análisis en 11 de los trabajos (aproximadamente el 4% de nuestra revisión). Dos de estos trabajos nos han sido de especial utilidad por encontrar coincidencias con el tipo de estudio que pretendíamos realizar, el primero de Taylor (Taylor y col., 1986) en el que se evaluaban implantes subcutáneos de tres tipos de productos, y el segundo de Jeyanthi (Jeyanthi y col., 1990) que hacía lo propio con implantes de hidroxietilmetacrilato. En cualquier caso no hemos encontrado ningún trabajo en la literatura en el que se haga referencia a estudios experimentales que incluyan análisis cuantitativos y cualitativos de un número mayor de dos o tres productos diferentes (Tabla 3.4).

Tabla 3.4.- Análisis de bibliografía en función del tipo de estudio realizado.



III.5.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO/ HISTOPATOLÓGICO

El análisis cualitativo se realizó mediante examen macroscópico e histológico de la respuesta tisular en el tiempo incluyendo:

- a) **Examen macroscópico:** Previamente a la realización de la escisión de la muestra se procedió al análisis macroscópico mediante inspección de la región interauricular haciendo hincapié en los siguientes parámetros:

- 1- *Inspección de la piel*: comprobando la integridad de la misma y la presencia o ausencia de habón de implante.
- 2- *Inspección del implante*: comprobando la existencia de variación del volumen, textura (dureza) o migración del mismo fuera de la región auriculotemporal.

b) Examen microscópico:

- 1- *Estabilidad del material de relleno*:
 - a. Persistencia o fagocitosis por las células de reacción inflamatoria.
 - b. Migración o fragmentación del implante.
 - c. Invasión del implante por tejido neoformado y vasos, por ser consideradas tanto la proliferación de tejido conjuntivo asociada a la de fibroblastos, como la presencia de pequeños vasos sanguíneos dos de las características histológicas propias de la inflamación crónica (Robbins y col., 2003).
- 2- *Tipo de reacción inflamatoria en el interior del implante y respuesta tisular alrededor del mismo*:
 - a. Presencia de macrófagos y comportamiento de los mismos frente al material de relleno: existen varios estudios que demuestran la importancia de los macrófagos en la respuesta tisular a los materiales de relleno (Anderson y col., 1984; Rae, 1986), no sólo por la capacidad de biodegradación de los mismos, sino por el papel fundamental que desempeñan en la activación de otras células implicadas en la respuesta inflamatoria (Robbins y col., 2003).
 - b. Tipo de infiltrado inflamatorio incluyendo presencia de células gigantes, considerándose a estas últimas como un marcador de respuesta inflamatoria crónica (Robbins y col., 2003).

- c. Otros tipos de células de inflamación.
- d. Existencia de cápsula fibrosa: la formación y evolución de la cápsula fibrosa formada alrededor del implante a lo largo de diversos períodos de tiempo, es considerada como uno de los marcadores de biocompatibilidad de un determinado material (Coleman y col., 1974).
- e. Modificaciones en el grosor del tejido subcutáneo alrededor del implante: la evaluación histológica de los tejidos adyacentes a los materiales implantados, valorando la reacción inflamatoria y la formación de cápsula fibrosa alrededor del implante, es uno de los métodos más frecuentemente empleados para valorar la biocompatibilidad de los materiales de relleno (Anderson y col., 1984). No hemos encontrado sin embargo, ninguna referencia bibliográfica en la que se haga referencia al análisis del grosor de estos tejidos por lo que, a modo de primer estudio en este sentido, hemos evaluado los cambios de grosor en el tejido subcutáneo de la piel que recubre los diferentes productos incluidos en nuestro trabajo.

Tabla 3.2.- Protocolo de Trabajo para el Análisis Cualitativo de la Respuesta Tisular a un Material de Relleno.

PRODUCTO:		ANÁLISIS MACROSCÓPICO					ANÁLISIS MICROSCÓPICO										
Supv ¹	Animal	Piel		Implante			Estabilidad del Material					Tipo de Reacción Tisular					
		ALT ²	HAB ³	TEXT ⁴	VOL ⁵	MIG ⁶	FAG ⁷	MIG	FRAG ⁸	TJN ⁹	V ¹⁰	CAPS ¹¹	MAC ¹²	HIST ¹³	GIG ¹⁴	OTRAS ¹⁵	
1	1																
1	2																
1	3																
1	4																
1	5																
1	6																
2	1																
2	2																
2	3																
2	4																
2	5																
2	6																
3	1																
3	2																
3	3																
3	4																
3	5																
3	6																
4	1																
4	2																
4	3																
4	4																
4	5																
4	6																

¹Supv: nº de supervivencia; ²ALT: alteraciones en la superficie de la piel; ³HAB: presencia visible de habón en la piel; ⁴TEXT: modificaciones en la textura del implante; ⁵VOL: modificaciones apreciables en el volumen; ⁶MIG: migración del implante; ⁷FAG: fagocitosis del implante; ⁸FRAG: fragmentación del implante; ⁹TJN: tejido neoformado dentro del material; ¹⁰V: presencia de vasos dentro del implante; nº total de células; ¹¹CAPS: presencia de cápsula fibrosa; ¹²MAC: presencia de macrófagos; ¹³HIST: presencia de histiocitos; ¹⁴GIG: presencia de células gigantes; ¹⁵OTRAS: presencia de otras estirpes celulares

III.5.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/ HISTOMORFOMÉTRICO

Para el análisis cuantitativo se analizaron siete cortes por animal, existiendo una distancia entre cortes de al menos 180 μm . Los datos se obtuvieron en campos de 10, 20 ó 40 aumentos según la variable estudiada. Los parámetros valorados para el análisis cuantitativo de la reacción tisular fueron (Tabla 3.3):

- 1- *Variaciones en longitud y volumen del implante.*
- 2- *Grosor de la cápsula alrededor del implante*, si existe. El valor del análisis del grosor de la cápsula fibrosa ha sido demostrado en varios trabajos en los que se estudió la reactividad tisular frente a diversos materiales de relleno (Taylor y col., 1986; Jeyanthi y col., 1990; Butler y col., 1997; Kao y col., 1999).
- 3- *Grosor del tejido subcutáneo.* De entre las complicaciones asociadas a la utilización de los materiales de relleno, una de las más frecuentemente citadas, y común a sustancias de diferente naturaleza, hace referencia a los cambios presentes en las características de la piel o mucosas que recubren los implantes. Independientemente de las reacciones granulomatosas, con formación de nódulos palpables, se han descrito en la literatura cambios en estos tejidos de envoltura, tanto en su aspecto como en su textura, que hacen pensar en la posible existencia de anomalías en la estructura histológica normal de los mismos (Selmanowitz y col., 1977).

Entre las alteraciones cutáneas, la mencionada más frecuentemente en diversos trabajos es el aspecto arrosariado o “beading”, que se ha vinculado al uso de la silicona (Pollack y col., 1990), el colágeno (Homicz y col., 2004) o el Artecoll (Homicz y col., 2004). Menos frecuentemente se ha descrito también el adelgazamiento de la piel (Spira y col., 1993) e incluso la existencia de atrofia grasa en los tejidos expuestos a este tipo de productos (Voy y col., 2002). La tendencia a la palpabilidad de determinados materiales de relleno (Maas y col., 2001) pudiera también estar asociada, no sólo a posibles errores en la técnica de implantación, sino a los cambios previamente mencionados.

- 4- *Recuentos celulares totales y de macrófagos, fibroblastos, células gigantes y neutrófilos.* El análisis cuantitativo obtenido del estudio de la reacción tisular dentro del implante da información del grado de estabilidad o degradación del material. Sus características son muy específicas de la naturaleza del producto y se correlacionan con la biocompatibilidad de los mismos cuando se introducen en un tejido (Jansen, 1993). La densidad de células mononucleares es considerado un indicador de inflamación crónica (Ziats y col., 1988) y de biocompatibilidad de los materiales de relleno, como se ha puesto de manifiesto en estudios realizados por Taylor (Taylor y col., 1986), Lemperle (Lemperle y col., 1991) y Jeyanthi (Jeyanthi y col., 1990).
- 5- *Recuento de vasos en el interior del implante.* Al igual que el infiltrado mononuclear, la presencia de vasos neoformados es una de las características propias de la inflamación crónica, por lo que la vascularidad de los implantes ha sido estudiada en diversos trabajos (Mass y col., 1993; Butler y col., 1997).
- 6- En el caso de la *grasa* se realizó, además de los análisis previos, el *estudio de la variación en peso* que sufrieron los implantes a lo largo de las diversas supervivencias, con el fin de evaluar el posible grado de reabsorción de la grasa en función del tiempo. Las muestras se tomaron incluyendo un fragmento de piel sobre el implante, igual en todas ellas, de 2 cm² de superficie.
- 7- En el caso del *Artecoll* se analizó el número de *esferas de polimetilmetacrilato por campo*, con el fin de valorar el grado de fibrosis inducido por dicho producto a lo largo de las supervivencias.

Los recuentos de células y de vasos, así como el de esferas por campo del Artecoll, se realizaron analizando campos aleatorios de 40 aumentos, mientras que para el estudio del grosor capsular y del tejido celular subcutáneo, se emplearon campos aleatorios de 20 aumentos. Para el análisis de las variaciones de longitud y espesor del implante las mediciones se realizaron en campos seleccionados de 10 aumentos.

Tabla 3.3.: Modelo de Tabla de Resultados para una Supervivencia del Análisis Cuantitativo de la Respuesta Tisular a un Material de Relleno.

PRODUCTO:										CELULAS						GRASA	
Sup ¹	Animal	Corte	Nº Porta	VOL ²	ESP ³	SUB ⁴	CAP ⁵	VASOS ⁶	MAC ⁷	FIB ⁸	GIG ⁹	NEU ¹⁰	NI ¹¹	TOT ¹²	PESO	E/C ¹³	
	1	1															
		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															
	2	1															
		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															
	3	1															
		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															
	4	1															
		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															
	5	1															
		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															

¹Sup: nº de supervivencia; ²VOL: volumen; ³SUB: grosor del tejido subcutáneo; ⁴CAP: grosor de la cápsula; ⁵MAC: nº de macrófagos; ⁶FIB: nº de fibroblastos; ⁷GIG: nº de células gigantes; ⁸NEU: nº de neutrófilos; ⁹NI: nº de células no identificadas; ¹⁰TOT: nº total de células; ¹¹VASOS: nº de vasos; ¹²

III.5.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

De las mediciones realizadas en cada una de las 7 muestras analizadas por animal se determinaron las medianas como representación de las 7 mediciones tomadas. Los resultados para las variables cuantitativas se expresan en medias, error estándar, desviación estándar, mediana, mínimo, máximo, percentil 25 y percentil 75.

La evolución de los diferentes materiales utilizados a lo largo del tiempo se grafican mediante diagramas de cajas ("Box-Plot"). El límite inferior de la caja se corresponde con el percentil 25, y el superior con el percentil 75. La línea horizontal en el interior de la caja representa la mediana. La longitud de la caja se corresponde con el rango intercuartílico, es decir, la diferencia entre el P75 y el P25. Se incluyen además, dos categorías de valores aberrantes, que se representan por asteriscos y círculos. Los valores mayores y menores de datos no aberrantes también se incluyen en las figuras, y se corresponden con las líneas horizontales que se dibujan fuera de la caja.

Las comparaciones estadísticas entre grupos se realizaron empleando el test de Mann-Whitney, mientras que las posibles diferencias entre diferentes períodos del mismo producto se analizaron mediante la prueba de Wilcoxon para datos apareados. Se consideraron estadísticamente significativos valores por debajo de 0,05.

Todos los análisis se realizaron empleando el programa SPSS 10.1 (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA).

IV. RESULTADOS

IV.1.- GRUPOS CONTROL Y PLACEBO

No se observaron diferencias en los tejidos obtenidos de ratas pertenecientes a los grupos control o placebo, ni en el examen histopatológico ni histomorfométrico (tabla 4.1).

Tabla 4.1.- Análisis Estadístico de la variable Células en los grupos Control y Placebo

Estadísticos de grupo

	PRODUCTO	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
CEL1	control	6	76,50	6,69	2,73
	placebo	6	78,50	6,53	2,67
CEL2	control	6	70,00	4,00	1,63
	placebo	6	73,50	3,56	1,45
CEL3	control	6	74,67	5,35	2,19
	placebo	6	71,67	3,27	1,33
CEL4	control	6	74,33	3,33	1,36
	placebo	6	70,67	6,77	2,76

cel1: $p = 0,612$; cel2: $p = 0,141$; cel3: $p = 0,274$; cel4: $p = 0,271$

No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos placebo y control, en los períodos analizados.

La piel de ambos grupos mostró una estructura histológica normal (Fig.4.1) a lo largo de todos los períodos.

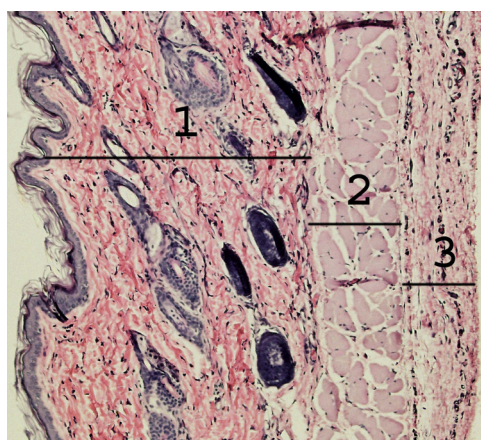


Fig. 4.1.- Estructura histológica de la piel en la rata. 1- Epidermis y dermis. 2- Tejido musculocutáneo. 3- Tejido Subcutáneo. (Haematoxilina-eosina, X60).

IV.2.- MATERIALES DE ORIGEN BIOLÓGICO

IV.2.1.- AGAROSA

IV.2.1.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.2.1.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO

Macroscópicamente la piel no presenta cambios apreciables a lo largo de los períodos estudiados. El habón permanece fácilmente identificable a lo largo de todas las supervivencias, con una leve disminución del volumen del implante (Fig.4.2). No hay cambios sensibles en la textura del habón ni se ha observado en ningún animal migración macroscópica del producto.

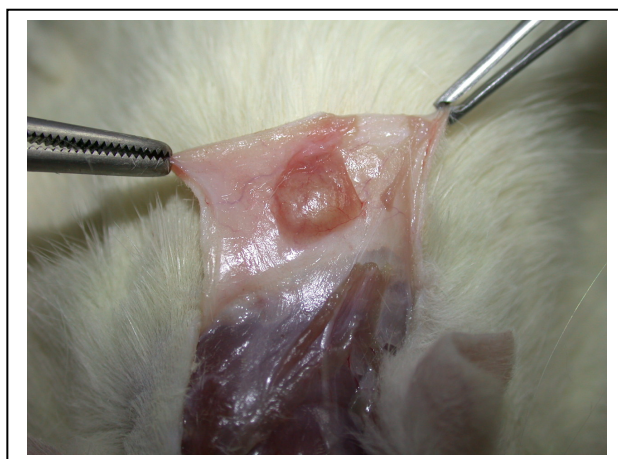


Fig. 4.2.- Imagen del implante subcutáneo de Agarosa ocho meses tras la inyección del material

IV.2.1.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO:

- a. Semana 1: los tejidos muestran una reacción inflamatoria aguda a nivel del tejido subcutáneo con escaso número de células dentro del implante, predominando los polimorfonucleares neutrófilos y los macrófagos (Figura 9.1).
- b. Semanas 4-16: se observa un aumento en el número de células dentro de los implantes y una disminución de la cantidad de producto presente en las muestras. El infiltrado celular predominante está constituido por macrófagos y fibroblastos. Estos últimos comienzan a formar una matriz

de colágeno, que aumenta de densidad a los cuatro meses. También se aprecia la presencia de células gigantes y capilares sanguíneos neoformados. No se evidencian nódulos fibrosos ni granulomas de cuerpo extraño. No se forma una cápsula fibrosa que delimite el implante, sino que el producto es invadido por tejido huésped (Figs. 9.11 y 9.21).

- c. Semana 32: existe un alto grado de infiltración celular con predominio de histiocitos y fibroblastos, evidenciándose la presencia de células gigantes. Dentro de los implantes se observan bandas de colágeno maduro, sin formación de nódulos fibrosos. Se observa la existencia de un número pequeño de vasos. La agarosa no induce la formación de cápsula alrededor del implante (Fig. 9.31).

IV.2.1.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

El análisis histomorfométrico de la agarosa muestra un infiltrado celular mínimo en la primera supervivencia [2 (0-29)], aumentando notablemente al cabo de un mes [139 (104-186)] y a los cuatro meses [142 (59-170)], mientras que a los ocho meses disminuye ligeramente [111 (56-137)] (Fig.4.3).

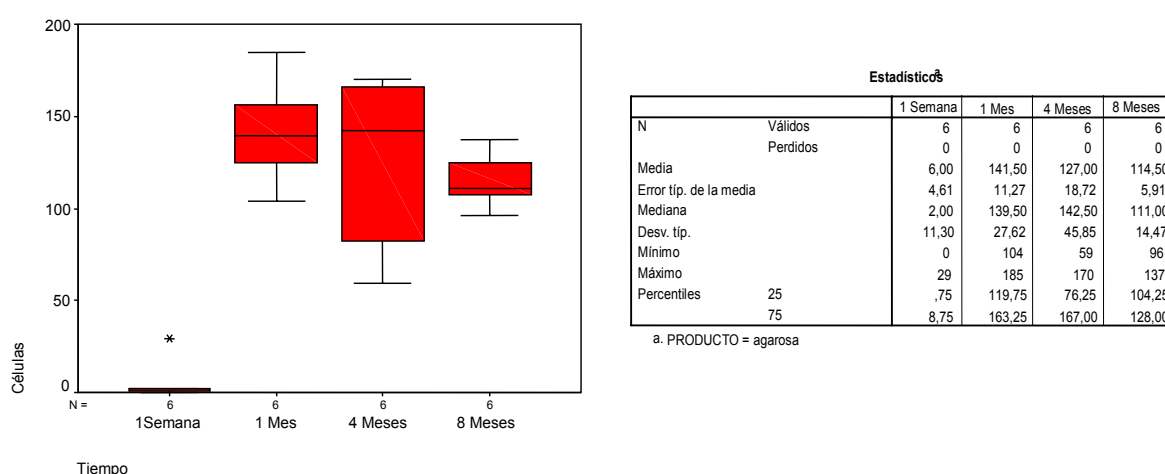


Fig.4.3.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de agarosa y evolución a lo largo del tiempo.

En el recuento por estirpes celulares existe un claro predominio del infiltrado macrofágico/histiocítico destacando, al cabo de ocho meses, el aumento del recuento de fibroblastos y la disminución del número de células gigantes (Fig.4.4).

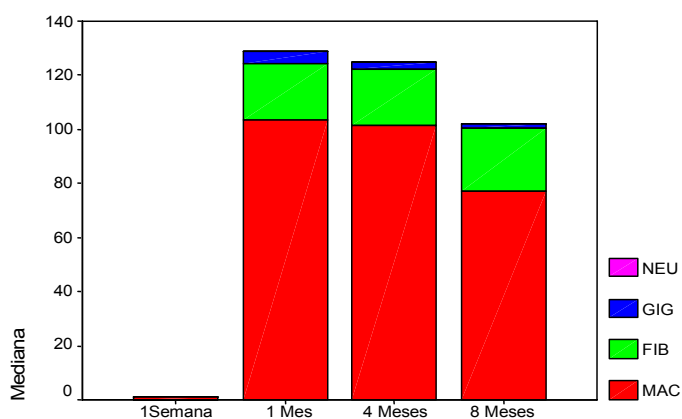


Fig. 4.4.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de agarosa por supervivencias.

El infiltrado histiocítico/macrofágico sigue una curva de evolución similar a la del número total de células, con un aumento importante entre la primera [1 (0-27)] y la segunda supervivencia [103 (70-138)], disminuyendo de forma moderada a los ocho meses [77 (71-87)] (Fig. 4.5).

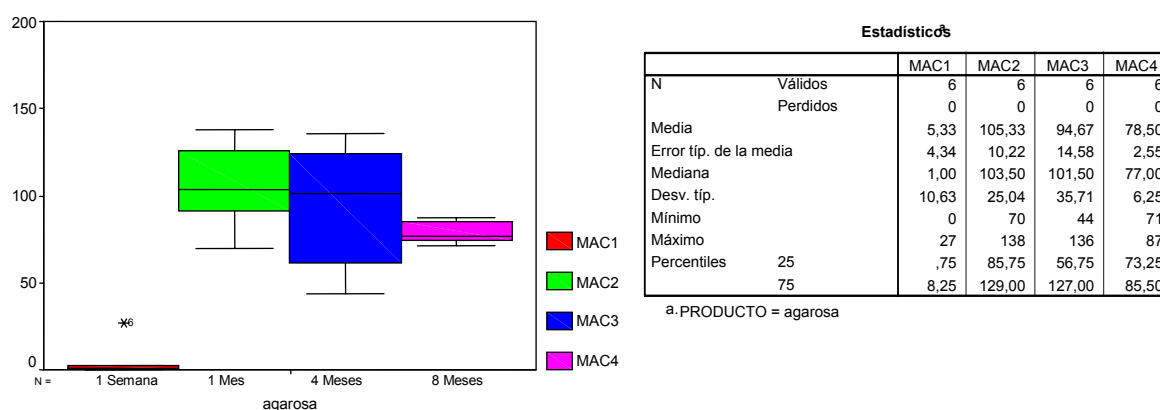


Fig.4.5.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Agarosa en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido subcutáneo no muestra variaciones destacables de grosor a lo largo de las supervivencias (Fig.4.6). Los valores de esta variable son similares a los obtenidos en los grupos control (min: 48 μ m- max: 71 μ m) y placebo (min: 55 – max: 68).

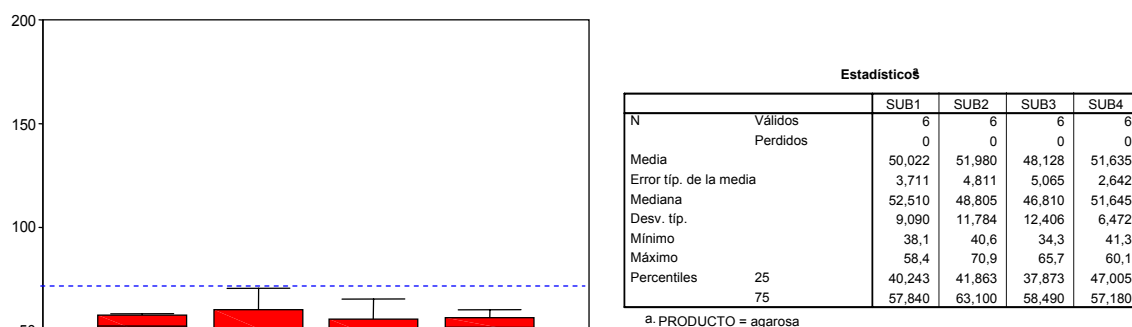
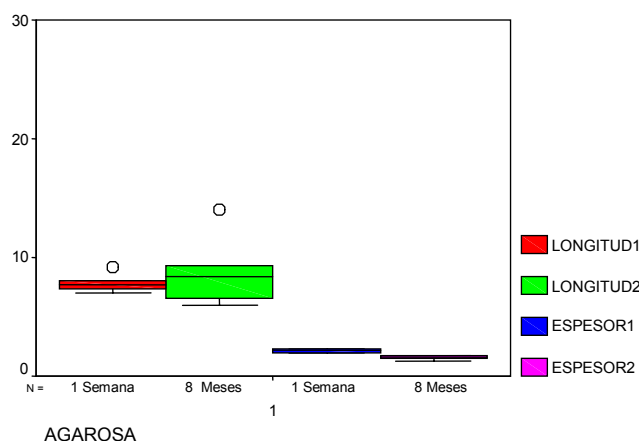


Fig.4.6.- Grosor del tejido subcutáneo (μ m) en los implantes de Agarosa (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

En lo que respecta a la variación de volumen del habón del implante entre la primera y la última supervivencias, se aprecia que ambas variables permanecen prácticamente constantes a lo largo del tiempo (Fig. 4.7). Teniendo en cuenta que se realiza una inyección retrógrada, el valor de la variable longitud siempre es mayor que el espesor del habón.



Estadísticos ^a				Estadísticos ^a			
		LONGITUD1	LONGITUD2			ESPESOR1	ESPESOR2
N	Válidos	6	6	N	Válidos	6	6
	Perdidos	0	0		Perdidos	0	0
Media		7,8333	8,7500	Media		2,1500	1,5667
Error típ. de la media		,3127	1,1783	Error típ. de la media		5,627E-02	6,146E-02
Mediana		7,6500	8,3500	Mediana		2,1500	1,6000
Desv. típ.		,7659	2,8863	Desv. típ.		,1378	,1506
Mínimo		7,00	6,00	Mínimo		2,00	1,30
Máximo		9,20	14,00	Máximo		2,30	1,70
Percentiles	25	7,3000	6,3750	Percentiles	25	2,0000	1,4500
	75	8,3750	10,4750		75	2,3000	1,7000

Agarosa

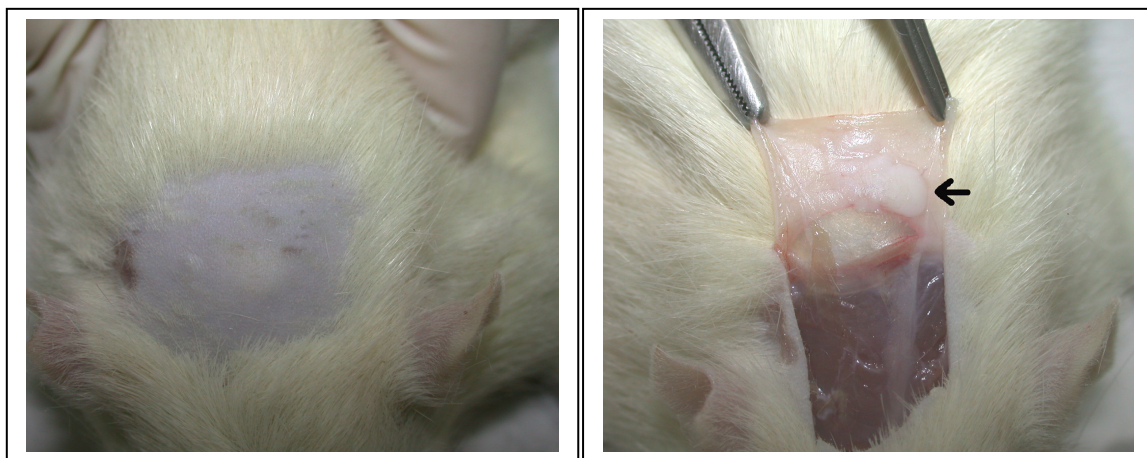
Fig.4.7.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón del implante de Agarosa en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.2.2.- COLÁGENO

IV.2.2.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.2.2.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

No se observaron alteraciones cutáneas en la piel que recubría los implantes de colágeno en ninguno de los períodos evaluados. El habón inducido por el producto era palpable a lo largo de todas las supervivencias si bien existía una disminución notable de volumen al cabo de ocho meses. En este último período el implante de colágeno aparecía, tanto en la inspección de la piel y tras la excisión del mismo, como una placa de aspecto blanquecino y dura al tacto (Figs. 4.8 y 4.9).



Figs.4.8. y 4.9- Implantes subcutáneos de Colágeno a la inspección y durante la resección de la muestra a los ocho meses de la infiltración.

IV.2.2.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO:

- a. Semana 1: Macroscópicamente los implantes se observan como una masa sin forma determinada, aplanada, blanca e indurada. Histológicamente el colágeno bovino no se presenta en haces bien definidos, sino que muestra el aspecto de un magma eosinofílico con núcleos dispersos en su interior. La mayor parte del contenido celular del implante, tanto en esta supervivencia como en las sucesivas, está constituido por células de aspecto mesenquimal sin morfología específica que permita clasificarlas dentro de una determinada estirpe celular. Induce una reacción inflamatoria moderada a los 7 días postimplante, con células cuya morfología se asemeja unas a macrófagos y otras a fibroblastos. El tejido subcutáneo no sufre modificación aparente en grosor ni celularidad con respecto al grupo control (Fig.9.2).
- b. Semanas 4 a 16: Los implantes de colágeno no muestran cambios significativos a lo largo del tiempo. A las 4 semanas, el implante presenta una tinción más eosinofílica, con aspecto más denso, pero sin presentar haces de colágeno bien definidos que pudieran hacer pensar en colágeno neoformado por parte del huésped. Persiste un moderado grado de infiltración con histiocitos/macrófagos y fibroblastos. No se observan células gigantes. El tejido subcutáneo alrededor del implante muestra un adelgazamiento progresivo, sin cápsula fibrosa alrededor del mismo (Figs.9.12 y 9.22).
- c. Semana 32: El volumen de los implantes de colágeno disminuye de forma significativa al cabo de ocho meses. El análisis histopatológico sigue mostrando una reacción inflamatoria de baja intensidad. No se evidencia la formación de colágeno nuevo pero sí la de pequeños capilares en el interior de los implantes analizados (Fig.9.32).

IV.2.2.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

El grado de infiltrado celular inflamatorio dentro de los implantes de colágeno permanece constante y bajo a lo largo de todas las supervivencias, con cierta tendencia al aumento entre la primera [44 (28-74)] y la segunda supervivencias [50 (25-54)], y entre el tercer [54 (38-57)] y el cuarto períodos [63 (57-81)] (Fig.4.10).

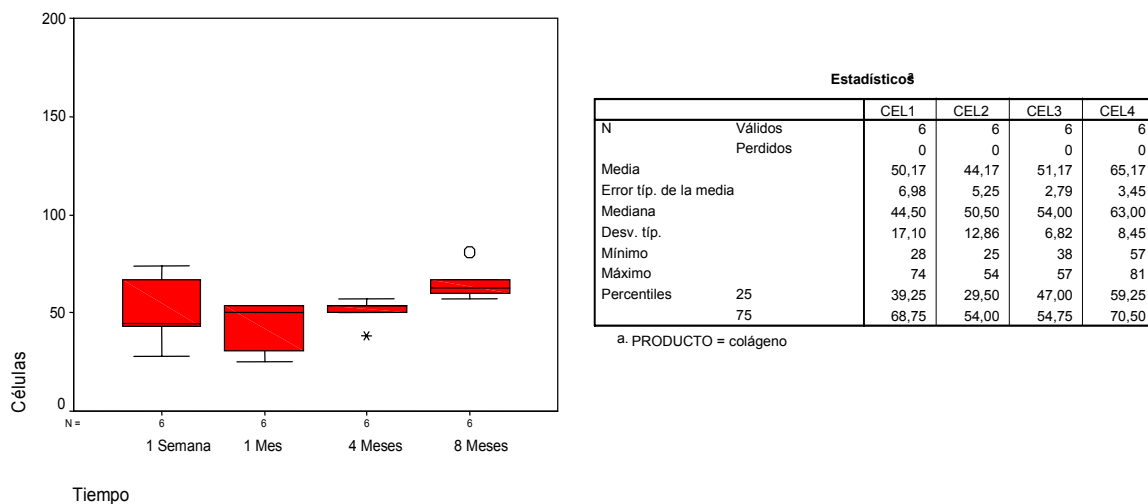


Fig.4.10.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Colágeno y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En lo que respecta a la distribución por estirpes celulares, este producto presenta un predominio de macrófagos/ histiocitos, si bien el recuento de fibroblastos es proporcionalmente mayor en comparación con otros materiales estudiados, manteniéndose una proporción de 3:1 aproximadamente en todos los períodos (Fig.4.11).

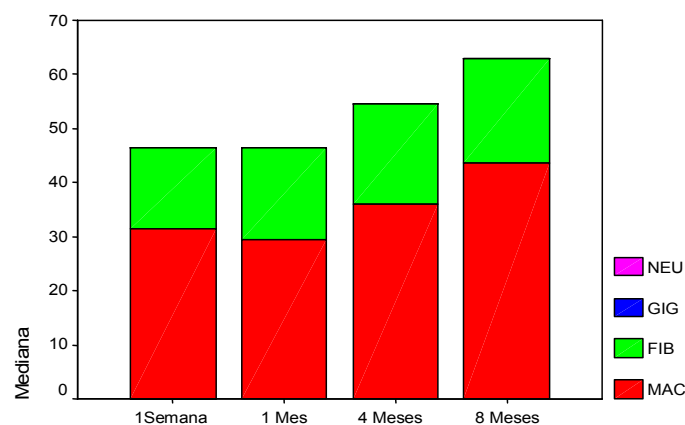


Fig. 4.11.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado celular en los implantes de Colágeno por supervivencias.

El infiltrado celular de tipo histiocítico/macrofágico sigue una curva paralela a la del recuento total de células en el interior del implante, con niveles casi constantes entre la primera [31 (20-52)] y segunda supervivencias [29 (15-36)] y tendencia al aumento entre la tercera [36 (23-37)] y la cuarta [43 (37-55)] (Fig.4.12).

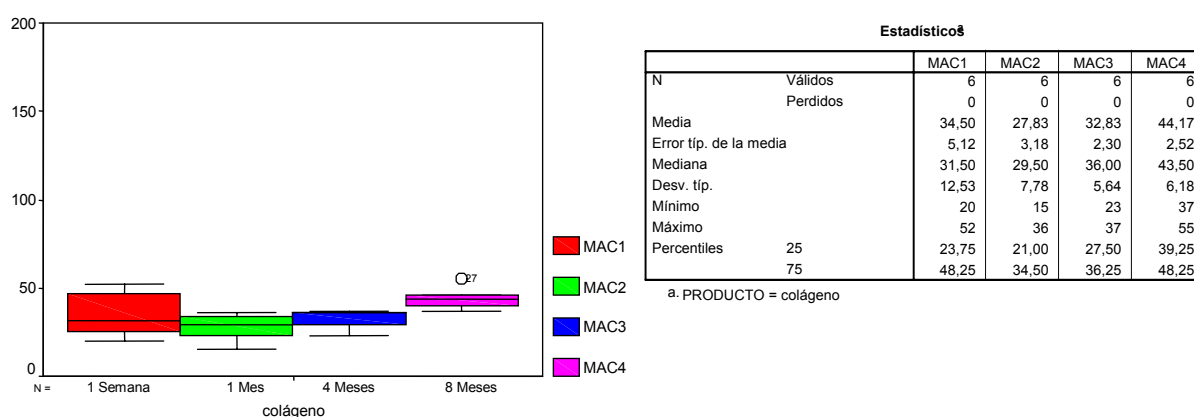


Fig.4.12.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Colágeno en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido celular subcutáneo de la piel que recubre los implantes de colágeno disminuye de grosor con respecto a los grupos control y placebo a partir de las cuatro semanas de la infiltración [53 (30-57)], continuando esta tendencia en la tercera [29 (24-33)] y cuarta supervivencias [20 (15-24)], sin llegar en esta última al grado de atrofia observada con otros materiales (Fig.4.13).

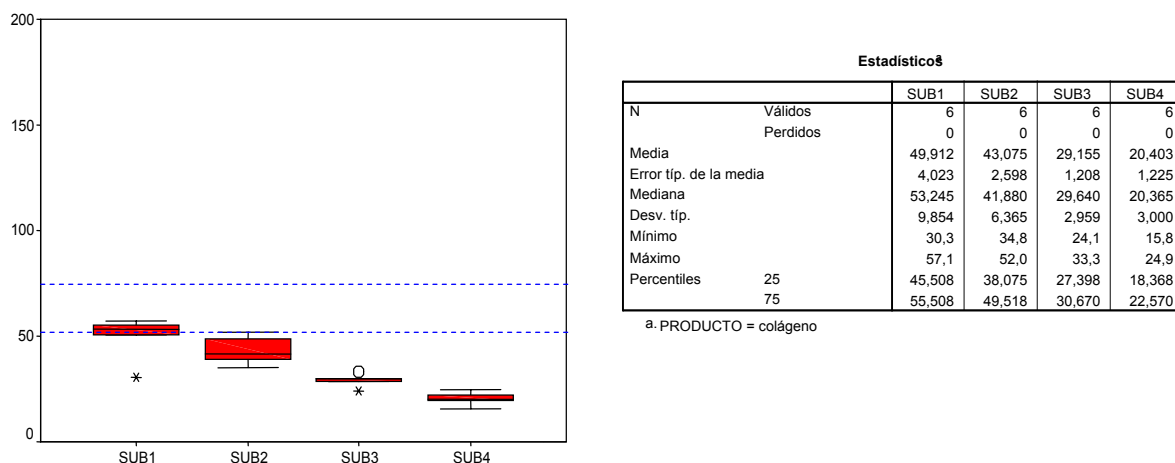
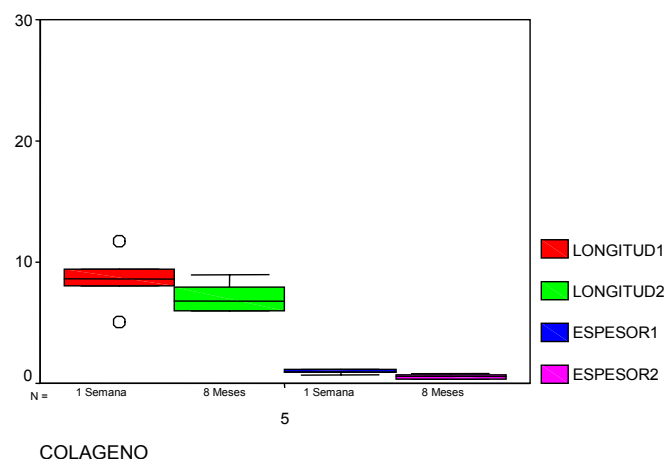


Fig.4.13.- Grosor del tejido subcutáneo (µm) en los implantes de Colágeno (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

Los implantes de colágeno sufren una disminución tanto en longitud como en espesor entre la primera semana [longitud 8 (5-11); espesor 0,9 (0,7-1,2)] y los ocho meses [longitud 7 (6-9); espesor 0,6 (0,4-0,8)] tras la infiltración del producto (Fig.4.14).



Estadísticos ^a				Estadísticos ^a			
		LONGITUD1	LONGITUD2			ESPESOR1	ESPESOR2
N	Válidos	6	6	N	Válidos	6	6
	Perdidos	0	0		Perdidos	0	0
Media		8,5667	7,0667	Media		,9667	,5667
Error típ. de la media		,8762	,4842	Error típ. de la media		7,149E-02	6,667E-02
Mediana		8,6000	6,7500	Mediana		,9500	,5500
Desv. típ.		2,1463	1,1860	Desv. típ.		,1751	,1633
Mínimo		5,10	6,00	Mínimo		,70	,40
Máximo		11,70	9,00	Máximo		1,20	,80
Percentiles	25	7,2750	6,0000	Percentiles	25	,8500	,4000
	75	9,9750	8,1750		75	1,1250	,7250

Fig.4.14.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón del implante de Colágeno en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.2.3.- GRASA

IV.2.3.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.2.3.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

Los implantes de grasa son fácilmente identificables a lo largo del tiempo, no apreciándose macroscópicamente una disminución significativa de volumen entre la primera y la última supervivencias. Las heridas quirúrgicas realizadas para la implantación del material evolucionaron normalmente, no observándose alteraciones en la piel que recubría el producto. En el momento de la escisión no se evidenció una modificación en la textura del relleno, pero si se pudo

constatar la presencia de ejes vasculares que se introducían en el implante procedentes de los tejidos circundantes en varias de las muestras estudiadas (Fig.4.15). Este fenómeno era apreciable ya desde la cuarta semana tras la introducción de los fragmentos de grasa. No existió migración de los implantes fuera de la región interauricular.

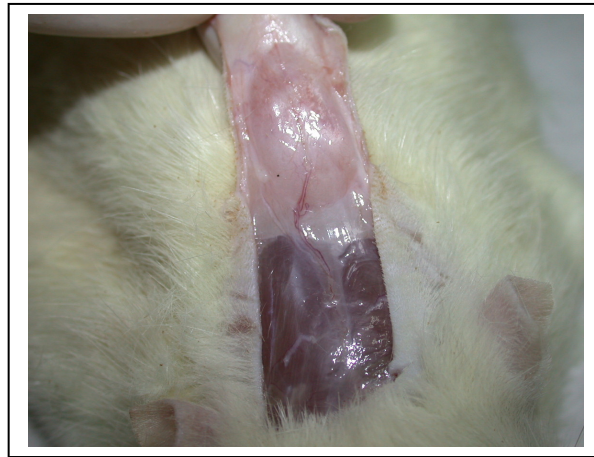


Fig. 4.15.- Imagen del implante subcutáneo de Grasa a las cuatro semanas de la implantación del material.

IV.2.3.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO/ HISTOPATOLÓGICO:

- a. Semana 1: Los implantes de grasa muestran un infiltrado celular inflamatorio, con predominio de células mononucleares pero sin una morfología claramente definida que nos permita incluirlas dentro de una estirpe celular concreta. Las células que observamos en esta supervivencia se encuentran formando acúmulos a nivel septal y presentan citoplasmas grandes y claros correspondiéndose probablemente a células de tipo macrófago. Estas áreas de infiltrado inflamatorio pueden estar asociadas a zonas de necrosis del tejido graso implantado en fase de desbridamiento (Fig.9.3).
- b. Semanas 4 a 16: En las siguientes 4 semanas existe una clara disminución del infiltrado celular inflamatorio y al cabo de cuatro meses el recuento celular se corresponde íntegramente a células de tipo adiposo. Se aprecia asimismo un aumento en el grado de

vascularización del implante, observándose capilares de calibre considerable al final de la tercera supervivencia. A lo largo de estos períodos el tejido subcutáneo experimenta un aumento de grosor con respecto a los animales control (Figs.9.13 y 9.23).

- c. Semana 32: No existen variaciones significativas con respecto al período previo, teniendo el implante las características propias de un tejido graso normal (Fig.9.33).

IV.2.3.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

La grasa muestra un descenso progresivo del recuento celular total a lo largo del estudio. En la primera supervivencia éste se corresponde en su mayor parte al componente celular inflamatorio presente en el interior del implante [98 (85-128)]. Al cabo de cuatro semanas el infiltrado inflamatorio disminuye de forma notable [83 (41-104)], correspondiendo casi la mitad a los núcleos de las células adiposas. En la tercera y última supervivencias existe un descenso lento del recuento celular total [tercera supervivencia 42 (33-52)]; [cuarta supervivencia 31 (23-34)] que en estos períodos se corresponden con una disminución del número total de adipocitos presentes en el interior del implante (Fig.4.16).

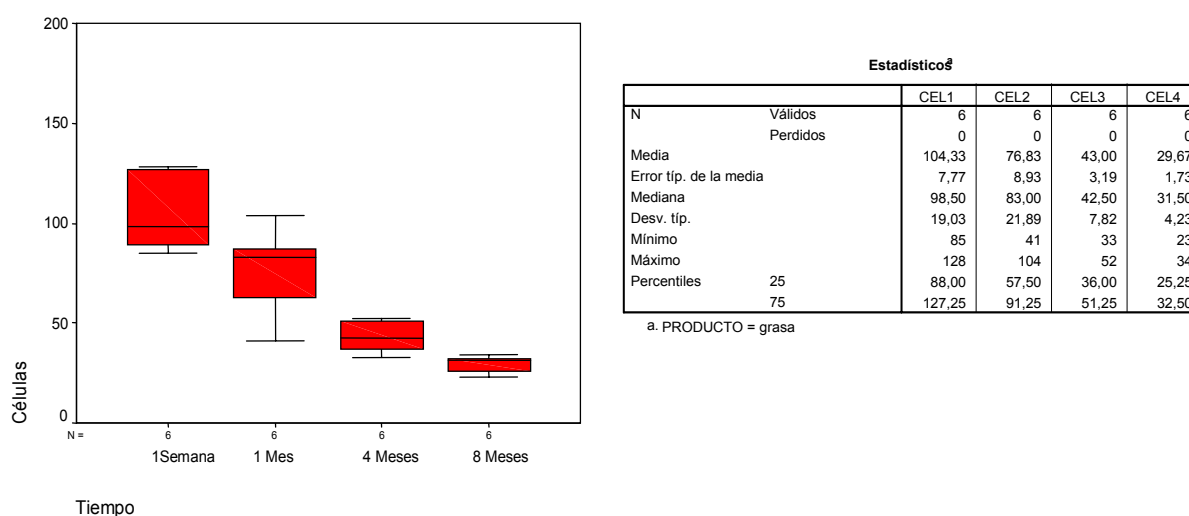


Fig.4.16.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Grasa y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Los implantes de grasa muestran un descenso progresivo de peso entre la primera [0,86 (0,76-1,16)] y la segunda supervivencias [0,54 (0,46-0,7)], y entre la segunda y la tercera [0,32 (0,22-0,59)]. Al cabo de ocho meses existe sin embargo un aumento de peso de los implantes con respecto al período de 4 meses [0,46 (0,19-1,34)]. (Fig.4.17). La diferencia de peso entre los fragmentos implantados y los obtenidos a los ocho meses es estadísticamente significativa ($p<0,05$).

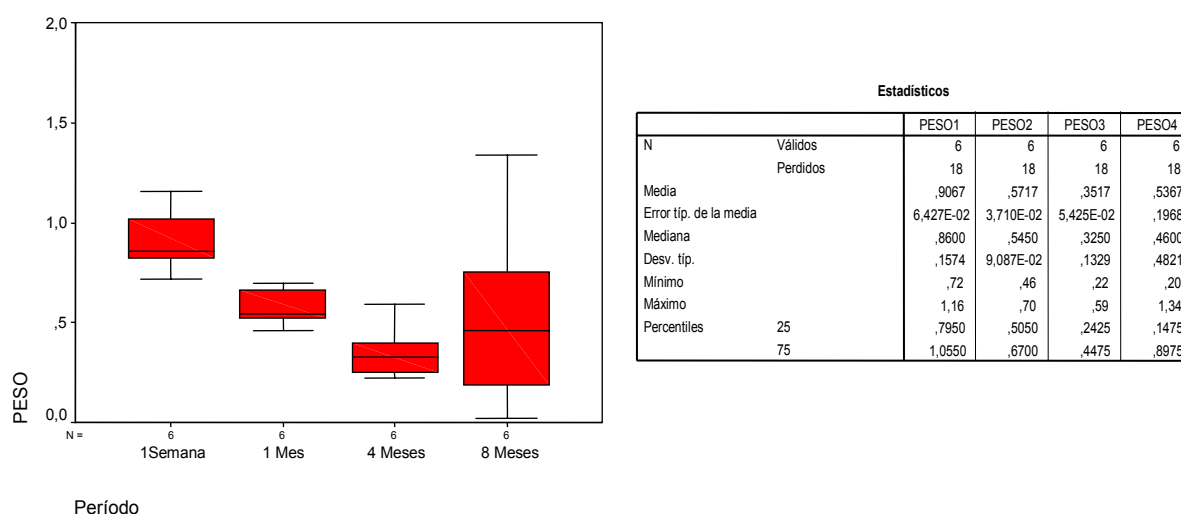


Fig.4.17.- Peso de los implantes de grasa (gramos) y evolución del mismo a lo largo de las supervivencias analizadas. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

En el análisis ponderal de los implantes de grasa, se incluyó el cálculo del porcentaje de peso perdido entre los fragmentos de grasa inicialmente implantado y su peso al cabo de ocho meses. Este porcentaje se corresponde con el grado de reabsorción del producto, que en nuestro estudio fue del 23 % (Tabla 4.2).

	$p0$ (Inicial) ¹	$p1$ Semana) ² (1	$p2$ Mes) ² (1	$p3$ Meses) ² (4	$p4$ Meses) ² (8
Peso	0,69	0,90	0,57	0,35	0,53

1: Peso medio implantado en gramos incluyendo fragmento de piel incorporado en la escisión de la muestra.

2: Peso medio del implante en gramos en las distintas supervivencias incluyendo el fragmento de piel.

% de peso perdido = $100 - \{(p4/p0) \times 100\}$

El recuento celular por estirpes se omite en este producto por corresponder en su mayor parte y a partir de las cuatro semanas, a células con las características propias de un tejido graso normal, siendo mínimo el infiltrado inflamatorio. Sólo en la primera y segunda supervivencia se observa la presencia de células de tipo macrofágico.

La grasa es el único material de relleno que induce un engrosamiento del tejido celular subcutáneo. Este aumento es menos evidente entre la primera semana [56 (47-64)] y el primer mes [67 (48-73)], siendo más notable entre esta última fase y los cuatro meses [86 (76-101)] tras la implantación. El mayor incremento se aprecia entre los cuatro y los ocho meses [109 (96-119)], alcanzando en esta supervivencia valores que casi duplican a los del grupo control-placebo (Fig.4.18).

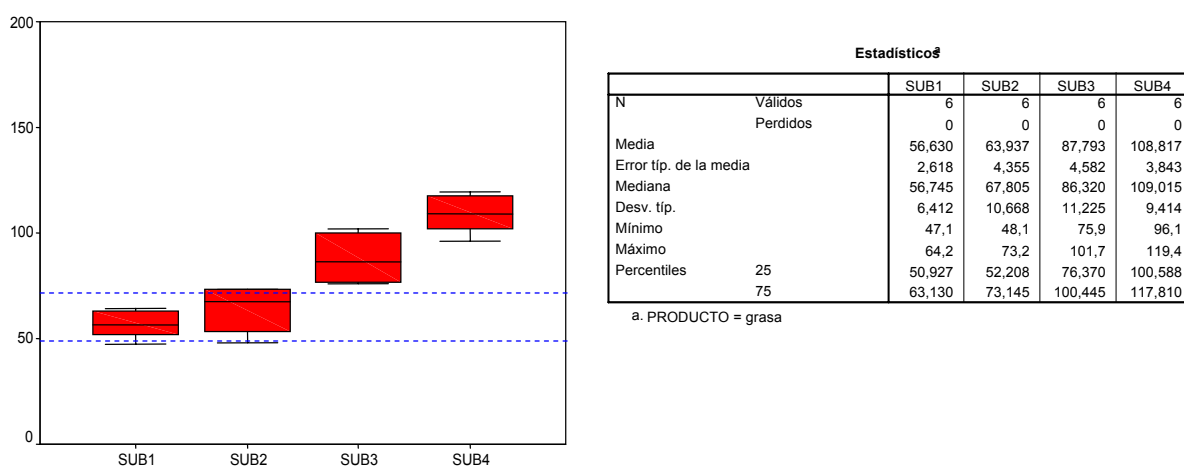


Fig.4.18.- Grosor del tejido subcutáneo (μm) en los implantes de Grasa (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

Los implantes de grasa experimentan una disminución de tamaño, tanto en longitud como en espesor entre la primera [longitud 18 (14-20); espesor 3 (2,4-4,7)] y la última supervivencia [longitud 15 (11-18); espesor 2,4 (0,9-3)] (Fig.4.19).

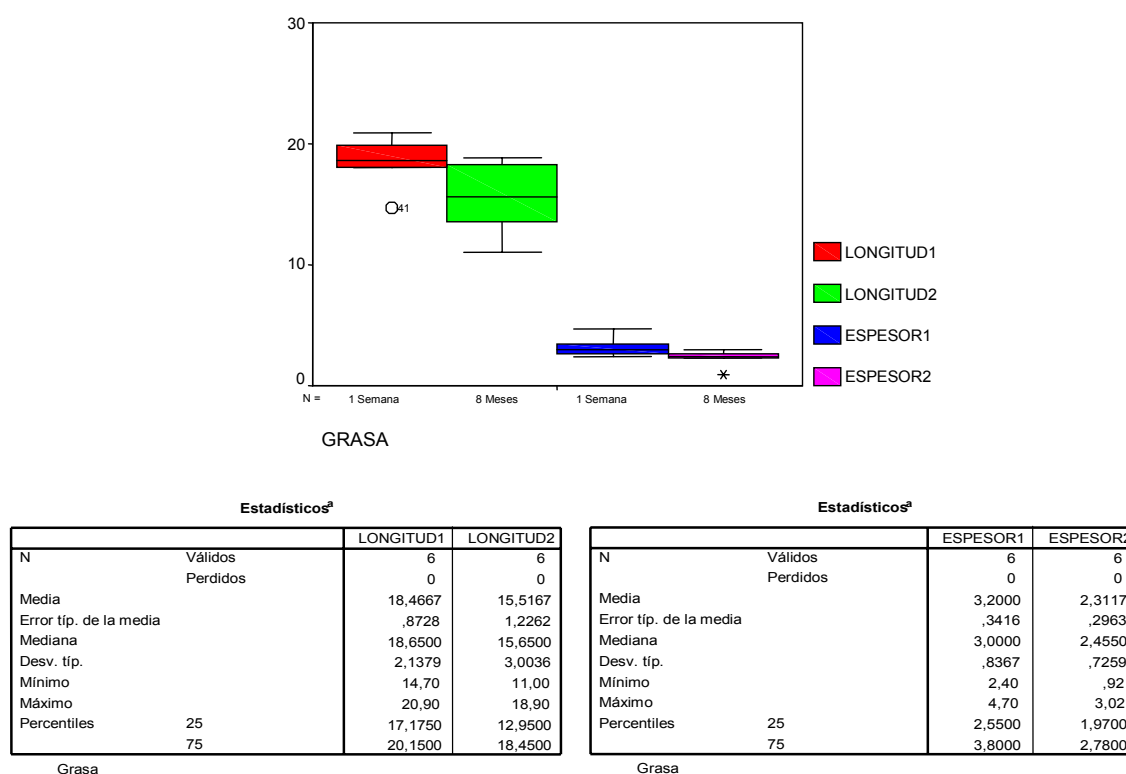


Fig.4.19.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de Grasa en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.2.4.- DERIVADOS DEL ACIDO HIALURONICO

IV.2.4.1.- PERLANE

IV.2.4.1.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.2.4.1.1.1.-Análisis Macroscópico:

No se observaron alteraciones en la piel que recubría los implantes de Perlane a lo largo de los períodos evaluados, ni migración del producto fuera del área inicial de implantación. Los implantes eran palpables en todo momento, sin observarse modificaciones significativas ni de volumen ni de textura de los mismos al cabo de ocho meses.

IV.2.4.1.1.2.- Análisis Microscópico/ Histopatológico:

- a. Semana 1: El ácido hialurónico induce una respuesta inflamatoria aguda con presencia de polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos infiltrando el implante y adheridos a la superficie del mismo. Se observa una monocapa de fibroblastos alrededor del implante como comienzo de formación de una cápsula fibrosa (Fig.9.4).
- b. Semanas 4 a 16: El ácido hialurónico estimula la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante. Esta cápsula es de grosor uniforme y consta de tres a cuatro capas de fibroblastos en el interior de fibras de colágeno denso. El grado de infiltrado inflamatorio dentro del implante es mínimo, con predominio de macrófagos. No se evidencia la presencia de células gigantes, fibroblastos ni neoformación de vasos en el interior del implante (Fig.9.14 y 9.24).
- c. Semana 32: La cápsula fibrosa alrededor del implante no sufre modificaciones significativas en grosor, persistiendo un infiltrado celular bajo. Se observa la presencia de acúmulos de aspecto eosinofílico, debidos probablemente a condensación del producto. El tejido subcutáneo de los tejidos en los que se implanta el ácido hialurónico parece de menor grosor que el de animales pertenecientes al grupo control o placebo (Fig.9.34).

IV.2.4.1.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

El Perlane presenta un recuento celular muy bajo a lo largo de todo el estudio, disminuyendo progresivamente desde la primera semana hasta los ocho meses. Este descenso es más marcado entre la primera semana [31 (23-34)] y el primer mes [16 (8-23)], descendiendo los valores nuevamente al cabo de cuatro meses [9 (1-17)] y alcanzando valores mínimos a los ocho meses tras la implantación del producto [2 (1-3)] (Fig.4.20).

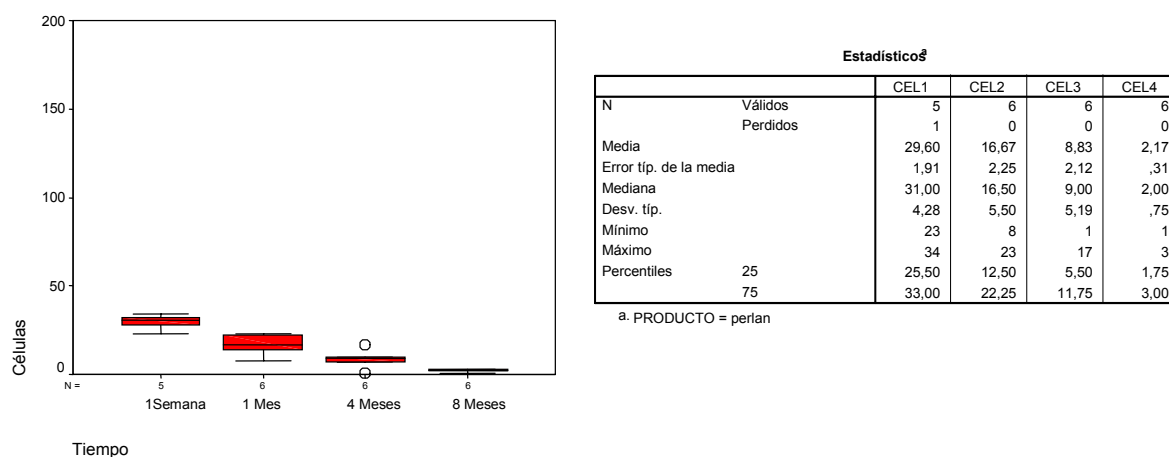


Fig.4.20.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Perlane y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=5; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En el análisis por estirpes celulares cabe destacar, al cabo de una semana, la presencia de un importante infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos, que predomina sobre el de macrófagos y que persiste aunque en menor grado al cabo de cuatro semanas. El recuento en las siguientes supervivencias es a expensas fundamentalmente del componente celular histiocítico/macrofágico (Fig.4.21).

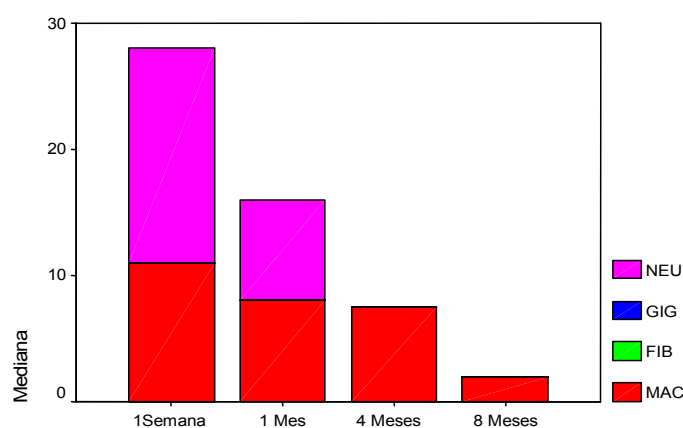


Fig. 4.21.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de Perlane por supervivencias.

El infiltrado inflamatorio de tipo macrofágico/histiocítico, muestra un descenso progresivo de sus valores entre la primera [11 (8-13)] y segunda supervivencias [8 (4-11)], manteniéndose constante desde ésta última hasta los

cuatro meses [8 (1-15)]. Al cabo de ocho meses el infiltrado alcanza los niveles más bajos de todos los períodos evaluados [2 (1-3)] (Fig.4.22).

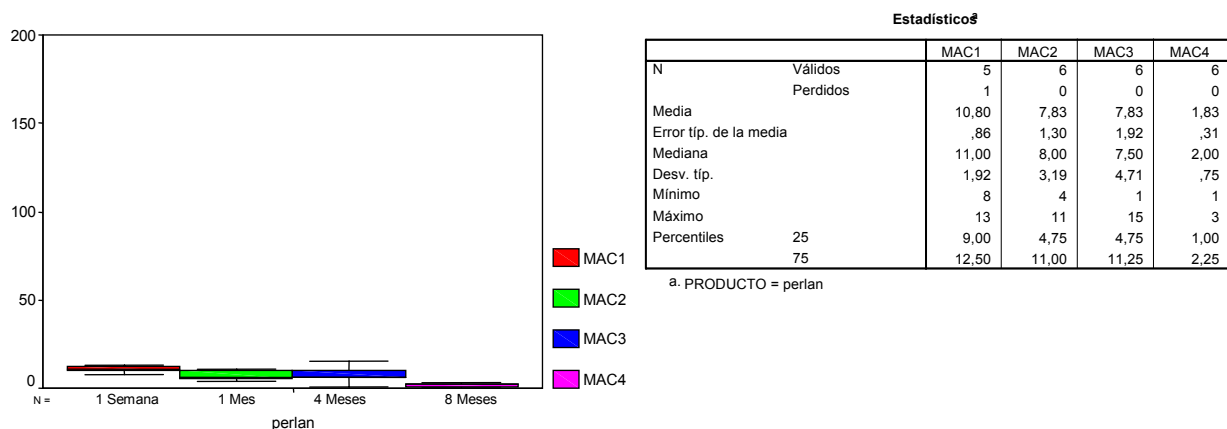


Fig.4.22.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Perlane en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=5; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El ácido hialurónico evaluado en nuestro estudio produce un adelgazamiento del tejido celular subcutáneo mínimo en comparación con los valores de los grupos control y placebo, más marcado entre la primera [45(40-54)] y las cuatro semanas [25(23-27)], manteniéndose en niveles casi constantes desde ésta hasta el último período evaluado al cabo de ocho meses [cuatro meses 37 (32-40)]; ocho meses 26 (23-28)] (Fig.4.23).

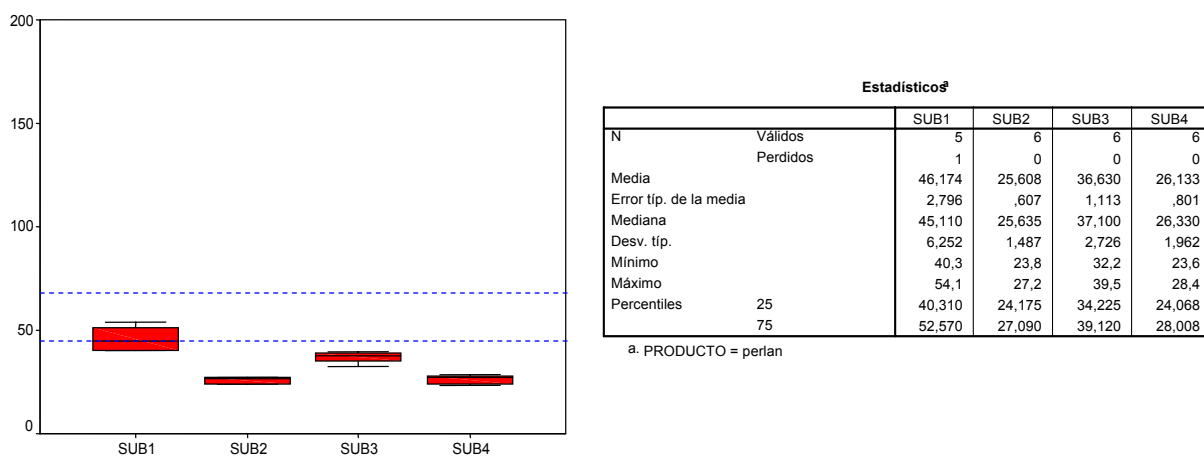


Fig.4.23.- Grosor del tejido subcutáneo (µm) en los implantes de Perlane (semana 1, n=5; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

Los implantes de Perlane inducen la formación de una cápsula fibrosa fina a partir de las cuatro semanas [15 (13-16)] de la infiltración del producto. El grosor de la misma se mantiene constante al cabo de 4 meses [11 (10-13)] y ocho meses [10 (9-14)] tras la implantación del producto (Fig.4.24).

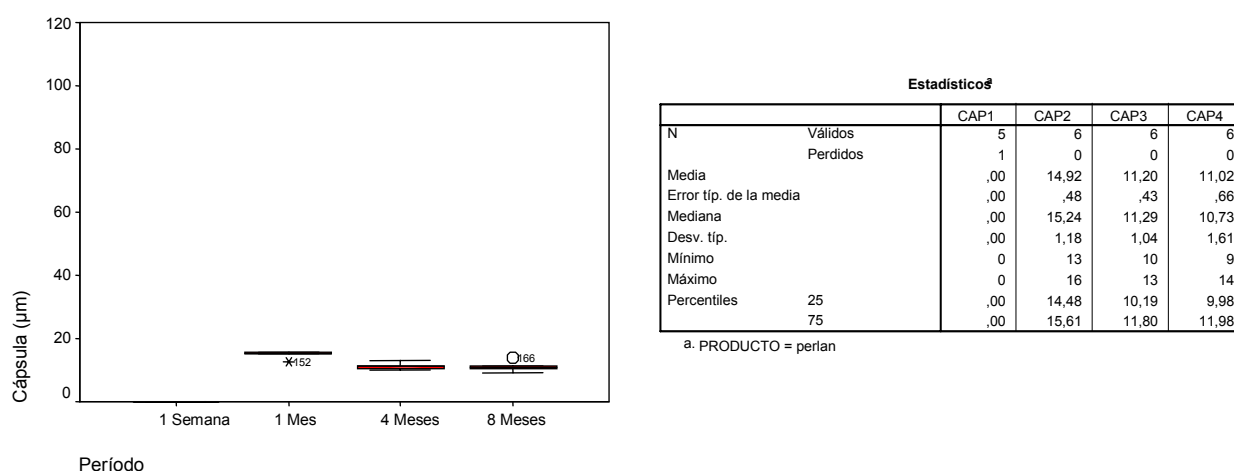
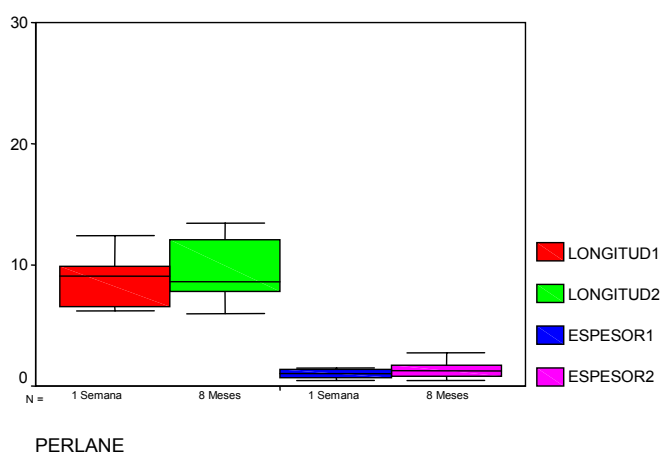


Fig.4.24.- Grosor de la cápsula formada alrededor de los implantes (µm) de Perlane (semana 1, n=5; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Con respecto al análisis de la variable de modificación de volumen a lo largo del tiempo, los implantes de Perlane no sufren modificaciones que puedan considerarse significativas ni en la longitud [primera semana 9 (6-12); ocho meses 8 (6-13)] ni en el espesor de los mismos [primera semana 1 (0,5-1,5); ocho meses 1,2 (0,5-2,8)] a lo largo de las supervivencias evaluadas (Fig.4.25).



Estadísticos ^a				Estadísticos ^a			
		LONGITUD1	LONGITUD2			ESPESOR1	ESPESOR2
N	Válidos	6	6	N	Válidos	6	6
	Perdidos	0	0		Perdidos	0	0
Media		8,8833	9,4500	Media		1,0333	1,3833
Error típ. de la media		,9297	1,1456	Error típ. de la media		,1706	,3361
Mediana		9,1000	8,6500	Mediana		1,0500	1,2500
Desv. típ.		2,2772	2,8062	Desv. típ.		,4179	,8232
Mínimo		6,20	6,00	Mínimo		,50	,50
Máximo		12,40	13,50	Máximo		1,50	2,80
Percentiles	25	6,5000	7,3500	Percentiles	25	,6500	,7250
	75	10,5250	12,4500		75	1,4250	1,9750

Perlane

Fig.4.25.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de Perlane en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.2.4.2.- HYALUDERM

IV.2.4.2.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.2.4.2.1.1.- Análisis Macroscópico:

Los implantes de Hyaluderm sólo son palpables al cabo de 48 horas tras su inyección apreciándose una significativa disminución de volumen. Después de este período no es posible objetivar su presencia bajo la piel de la zona infiltrada. No se observa alteraciones en la piel que recubre los implantes en ninguna de las supervivencias. Tampoco se pudo evidenciar migración del producto fuera de la región interauricular.

IV.2.4.2.1.2.- Análisis Microscópico/ Histopatológico:

- 48 Horas: Los implantes de Hyaluderm se caracterizan por la presencia de un material de aspecto laxo, ligeramente eosinofílico con algunas formaciones dispersas de aspecto fibrilar. En el infiltrado celular dentro del implante predominan los macrófagos y los neutrófilos. En esta supervivencia es llamativa la presencia de componente celular inflamatorio a nivel del plano musculocutáneo, con grupos de células infiltrando y rodeando las fibras musculares (Fig.9.10).
- Semanas 1 y 4: Al cabo de una semana, sólo en un animal de los 6 se identificaron restos del material de relleno, apreciándose en el resto cambios a nivel del tejido subcutáneo que presenta un ligero engrosamiento. En 4 de los animales de esta supervivencia se evidenciaron cambios a nivel del tejido muscular próximo a la zona del

implante, con un infiltrado inflamatorio de células mononucleares que engloban las fibras musculares (Fig.9.10.bis).

Al cabo de un mes no se demuestra la presencia de ácido hialurónico en los tejidos con las técnicas habituales de tinción. En este período se observa una reacción degenerativa de fibras musculares con focos de necrosis activa caracterizados por un gran infiltrado de células mononucleadas y alteración en la estructura de las fibras musculares sanas circundantes (Fig.9.20).

- c. Semana 16: En la cuarta y última supervivencia persisten y se intensifican los cambios de tipo degenerativo en las fibras musculares. Asimismo se hacen más patentes los cambios asociados a procesos de tipo regenerativo, con la presencia de núcleos localizados centralmente en el interior de las fibras musculares, marcadamente agrandados y presentando con frecuencia nucleolos prominentes (Figs.9.30 y 9.40).

IV.2.4.2.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

En el Hyaluderm se observa un aumento importante del espesor del tejido celular subcutáneo en las primeras cuarenta y ocho horas [402(386-458)], retornando a valores próximos a los de los grupos control y placebo al cabo de una semana [86(76-97)]. Posteriormente los valores se mantienen en este rango tanto al cabo de un mes [66(58-76)] como a los cuatro meses [62(45-72)] de la implantación (Fig.4.26).

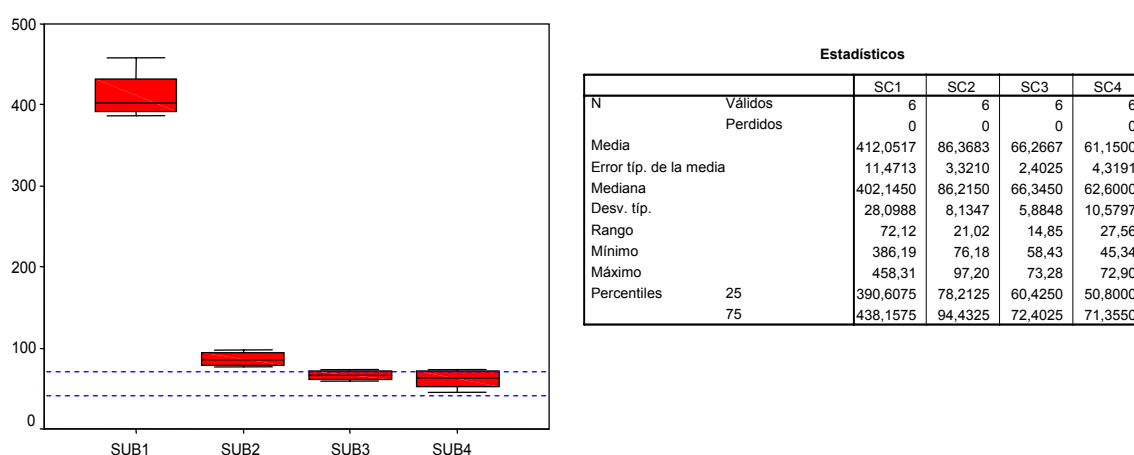


Fig.4.26.- Grosor del tejido subcutáneo (µm) en los implantes de hyaluderm (48 horas, n=6; semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

IV.3.- MATERIALES DE ORIGEN INORGANICO

IV.3.1.- DERIVADOS DE LAS POLIACRILAMIDAS

IV.3.1.1.- AQUAMID

IV.3.1.1.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.3.1.1.1.1.- Análisis Macroscópico:

No se evidenciaron alteraciones en la piel que recubría los implantes de Aquamid. El volumen del producto no sufrió variaciones significativas “de visum”, ni se observó migración del mismo fuera de la zona inicialmente infiltrada. A la palpación de los implantes se apreció mayor induración de los implantes a los ocho meses en comparación con la observada una semana después de la implantación del producto.

IV.3.1.1.1.2.- Análisis Microscópico:

- a. Semana 1: los tejidos infiltrados con esta poliacrilamida muestran una respuesta inflamatoria aguda con infiltración por leucocitos polimorfonucleares que aparecen adheridos a la superficie del implante. En el interior del gel se aprecian tanto leucocitos polimorfonucleares como macrófagos. Alrededor del implante existe una monocapa de fibroblastos. (Fig. 9.5).
- b. Semanas 4 a 16: Existe una cápsula fibrosa alrededor del implante, constituida por cinco a seis capas de fibroblastos en el interior de una matriz de colágeno denso. El interior del producto presenta una alta densidad celular con predominio de histiocitos/macrófagos. Al cabo de un mes, existe migración de fibroblastos de aspecto inmaduro hacia el interior del implante, formando una matriz de tejido fibroso. Al cabo de cuatro meses, se observa la presencia de bandas fibrosas que se extienden hacia el interior del producto desde el tejido circundante a modo de proyecciones digitiformes. También observamos la presencia

de unas formaciones nodulares, probablemente debidas a la sección de las bandas fibrosas previamente descritas (Figs. 9.15 y 9.25)

- c. Semana 32: Los implantes de poliacrilamida muestran una invasión fibrosa importante con fragmentación del producto por múltiples nódulos fibrosos (Figs. 9.41. a-c). No existe cápsula definida alrededor del material. La infiltración celular persiste con presencia de macrófagos y fibroblastos. No se detecta la presencia de células gigantes de cuerpo extraño (Fig.9.35).

IV.3.1.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/ HISTOMORFOMÉTRICO:

En el recuento total de células el Aquamid muestra un aumento progresivo de la celularidad a lo largo del tiempo (Fig. 4.27). Este recuento es similar entre la primera [62 (41-68)] y segunda supervivencias [66 (61-115)], aumentando de forma más importante desde el tercer período [74 (66-85)] hasta la última supervivencia analizada [116 (86-127)].

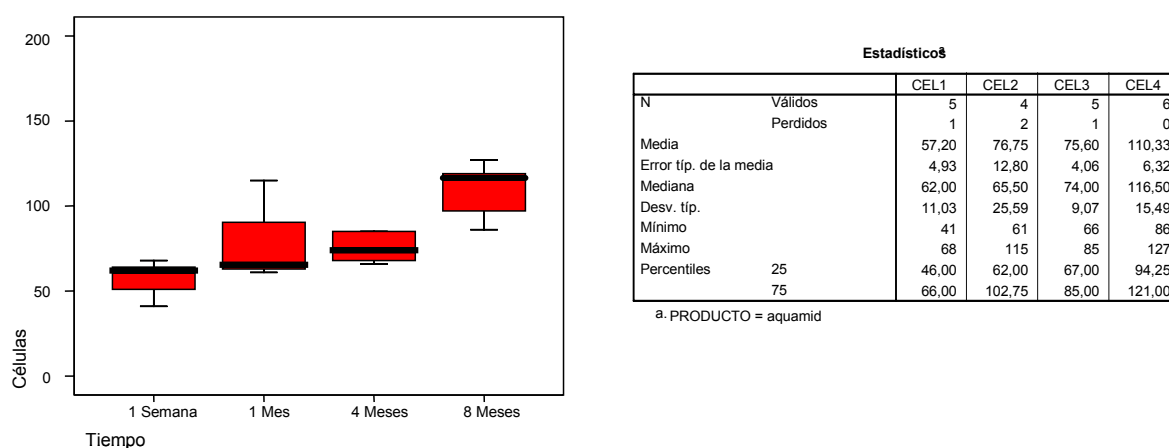


Fig.4.27.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de la poliacrilamida Aquamid y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=5; mes 1, n=4; mes 4, n=5; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En el análisis por estirpes celulares destaca la presencia de células de tipo polimorfonuclear tanto en la primera semana como al cabo de un mes. Asimismo el incremento de la celularidad entre la tercera y cuarta supervivencias se produce a expensas fundamentalmente del número total de

células de tipo fibroblástico, manteniéndose constante el número de células de estirpe macrófago/histiocítico. No existe presencia de células gigantes de cuerpo extraño (Fig.4.28).

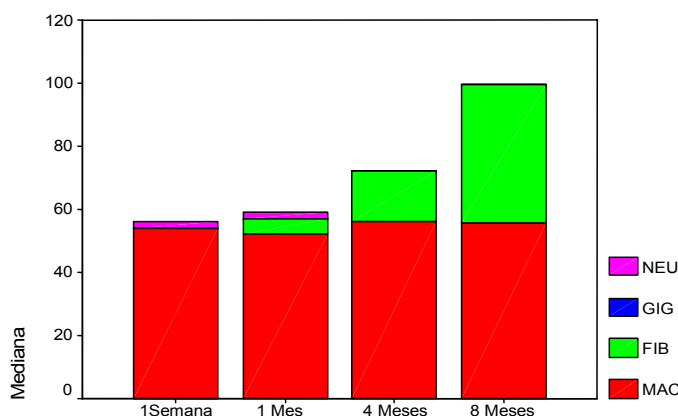
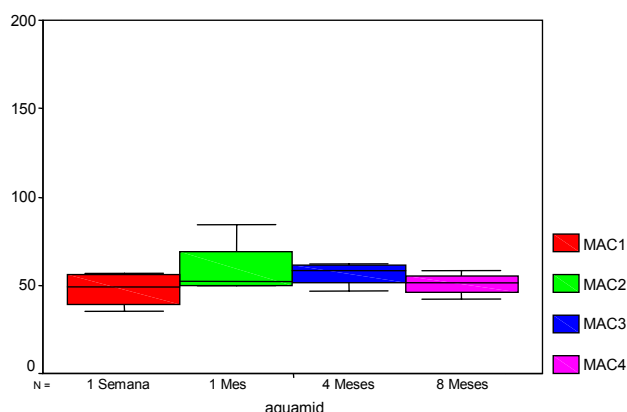


Fig. 4.28.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de Aquamid por supervivencias.

En este producto el recuento de macrófagos permanece constante a lo largo de los períodos evaluados (Fig.4.29), no existiendo diferencias importantes entre los datos obtenidos para esta variable entre la primera semana [54 (35-57)] y los ocho meses [55 (42-63)]. La distribución del número de macrófagos en este producto, a diferencia de otros, no es paralela a la del número total de células.



	MAC1	MAC2	MAC3	MAC4
N	5	4	5	6
Válidos	5	4	5	6
Perdidos	1	2	1	0
Media	48,80	59,50	53,60	54,50
Error tip. de la media	4,22	8,22	3,70	3,19
Mediana	54,00	52,00	56,00	55,50
Desv. tip.	9,44	16,44	8,26	7,82
Mínimo	35	50	43	42
Máximo	57	84	62	63
Percentiles				
25	39,00	50,00	45,00	48,00
75	56,00	76,50	61,00	61,50

a. PRODUCTO = aquamid

Fig.4.29.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Aquamid en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=5; mes 1, n=4; mes 4, n=5; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido subcutáneo muestra una disminución marcada de grosor, produciéndose fundamentalmente en las cuatro primeras semanas tras la

implantación del producto [de 62 μm (48-63) en la primera semana a 12 μm (12-14) al cabo de un mes]. Posteriormente el grosor se mantiene constante y bajo, inferior al obtenido en los grupos control y placebo (Fig.4.30).

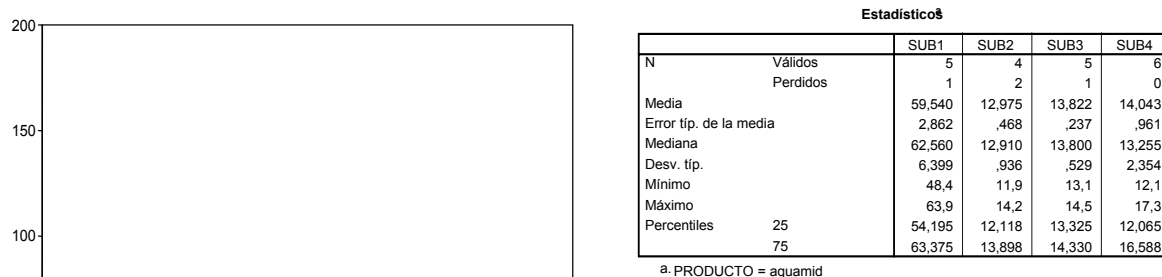


Fig.4.30.- Grosor del tejido subcutáneo (μm) en los implantes de Aquamid (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

El Aquamid induce la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante, que como se mencionó en el apartado de análisis microscópico, se evidencia a partir de la cuarta semana tras la implantación [34 (33-49)]. El grosor de esta cápsula aumenta de forma notable hasta los cuatro meses [76 (42-101)]. Posteriormente el alto grado de fibrosis en el interior del implante hace imposible distinguir esta estructura alrededor del producto (Fig.4.31).

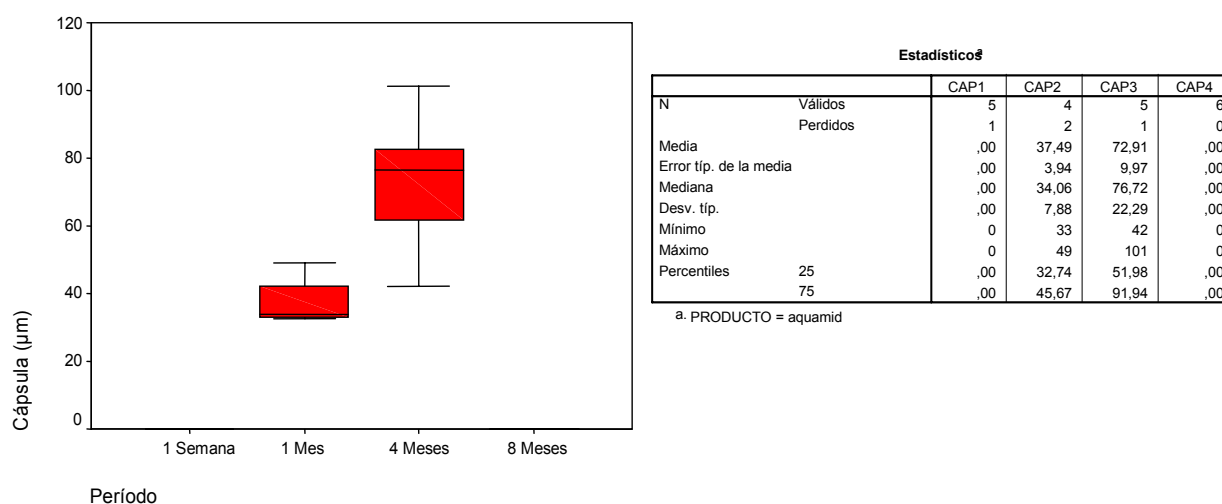


Fig.4.31.- Grosor de la cápsula formada alrededor del implante (μm) de Aquamid (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El volumen de los implantes de Aquamid no sufre modificaciones importantes a lo largo del tiempo, manteniéndose casi constantes tanto los valores de la longitud [primera semana 12(6-13); ocho meses 13 (11-14)] como del espesor [primera semana 1,6 (1-2,9); ocho meses 1,4 (1,2-1,7)] (Fig.4.32).

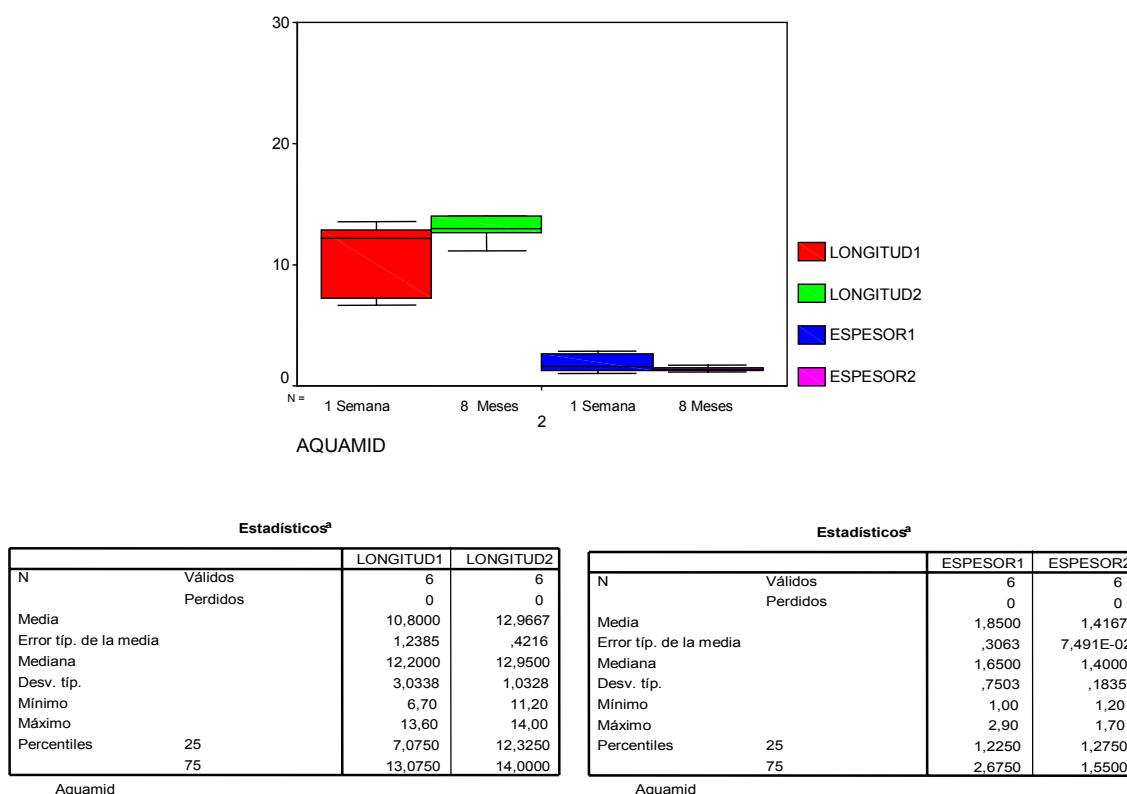


Fig.4.32.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón del implante de Aquamid en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.3.1.2.- BIO-ALCAMID

IV.3.1.2.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.3.1.2.1.1.- Análisis Macroscópico:

Los implantes de Bio-Alcamid eran palpables en la región infiltrada al cabo de ocho meses, si bien presentaban una disminución moderada de volumen. No se observaron alteraciones de las características macroscópicas normales de la piel bajo la que se introdujo el material. Los implantes no mostraban cambios apreciables en su textura a lo largo de las supervivencias. (Fig.4.33)

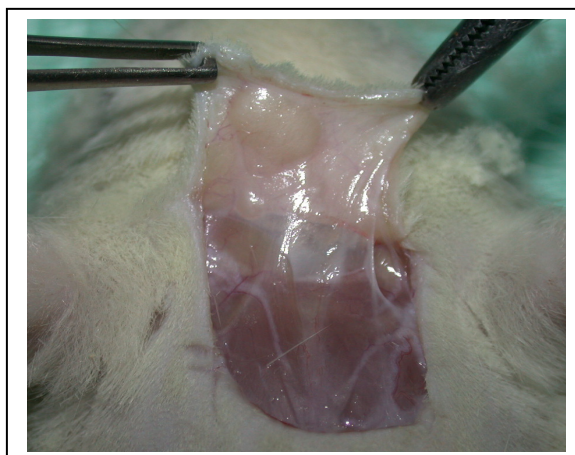


Fig. 4.33.- Imagen del implante subcutáneo de Bio-Alcamid ocho meses tras la inyección del material

IV.3.1.2.1.2.- Análisis Microscópico:

- a. Semana 1: El Bio-Alcamid se presenta en forma de gel homogéneo con un infiltrado celular moderado en el que predominan los macrófagos, en ocasiones agrupados entorno a fragmentos aislados de gel. Alrededor del implante no se observan indicios de formación de cápsula fibrosa, si bien se aprecia un aumento de la celularidad a nivel del tejido subcutáneo (Fig. 9.7).
- b. Semanas 4 a 16: En las siguientes supervivencias se forma una cápsula no bien delimitada, si bien mantiene un grosor más o menos constante a lo largo de las supervivencias. El infiltrado celular está constituido de forma predominante por macrófagos de aspecto vacuolado y fibroblastos. Se aprecia asimismo la presencia de unas agrupaciones de aspecto nodular que contienen fragmentos del gel, macrófagos y fibroblastos, rodeadas por bandas de colágeno que aumentan de grosor a los 4 meses. Estos nódulos son de características similares a las observadas en el caso del Aquamid pero en el caso del Bio-Alcamid el colágeno de la pared de estas formaciones no alcanza el grado de grosor, ni de densidad encontradas en aquel (Fig.9.42). No se observa la presencia de células gigantes y hay un escaso número de vasos en el

interior del implante. El tejido celular subcutáneo disminuye moderadamente (Figs.9.17 y 9.27).

- c. Semana 32: A los 8 meses los implantes de Bio-Alcamid presentan una cápsula de grosor similar al observado en las supervivencias previas pero a diferencia de los otros períodos, se encuentra asociado a una atrofia del tejido subcutáneo adyacente. Presenta un grado de infiltración celular bajo constituido por macrófagos dispersos y algunos fibroblastos, sin células gigantes. Se observan algunos capilares en el interior de 3 de las seis muestras analizadas (Fig.9.37).

IV.3.1.2.1.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/ HISTOMORFOMÉTRICO:

El Bio-Alcamid presenta un recuento celular bajo en la primera supervivencia [15(2-22)], aumentando de forma progresiva hasta la tercera supervivencia [27 (18-38)] a las cuatro semanas; 48 (41-64) a los cuatro meses]. Al cabo de ocho meses existe una disminución de la celularidad [18 (12-44)] hasta valores próximos a los encontrados en el primer período evaluado (Fig.4.34).

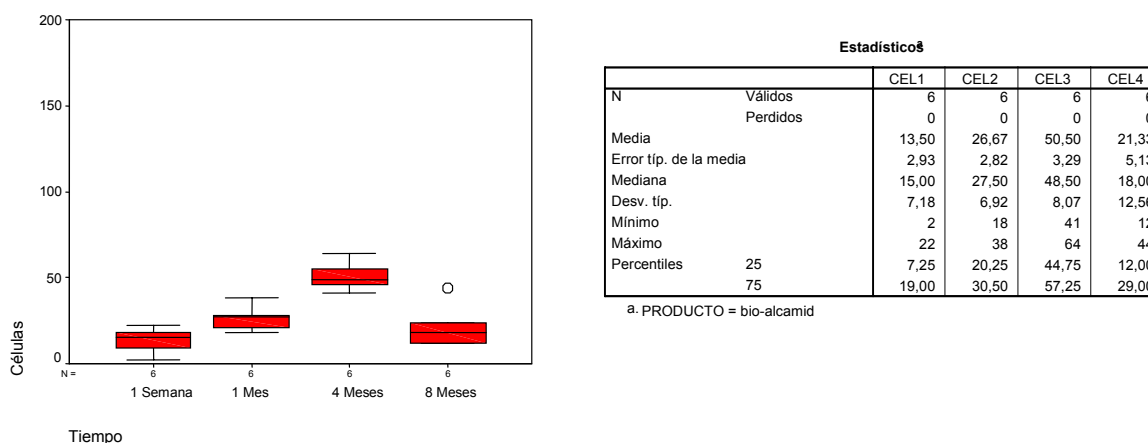


Fig.4.34.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Bio-Alcamid y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En lo que respecta a la distribución por estirpes celulares, existe un claro predominio de las células de tipo macrófago a lo largo de todos los períodos, con escasa cantidad de fibroblastos. Estos últimos comienzan a ser

identificados desde las cuatro semanas tras la implantación del producto, y mantienen una proporción más o menos constante con respecto a la densidad de histiocitos /macrófagos hasta el último período analizado (Fig.4.35).

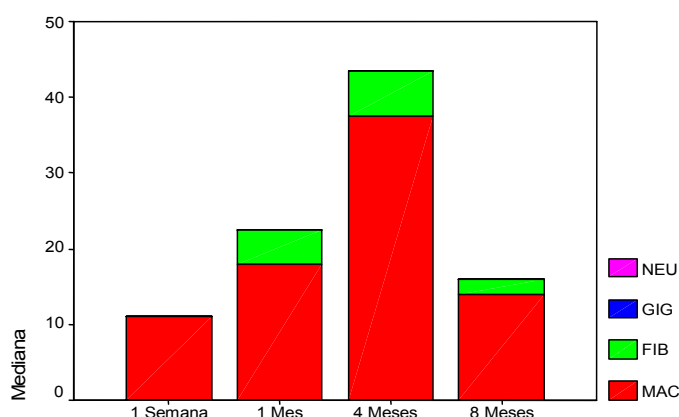


Fig. 4.35.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado celular en los implantes de Bio-Alcamid

La densidad de histiocitos/ macrófagos dentro del implante sigue una evolución paralela a la del número total de células, aumentando de forma progresiva a lo largo de la primera [11 (2-17)], segunda [18 (14-21)] y tercera [37 (33-52)] supervivencias, para disminuir al cabo de ocho meses [14 (9-27)] (Fig.4.36).

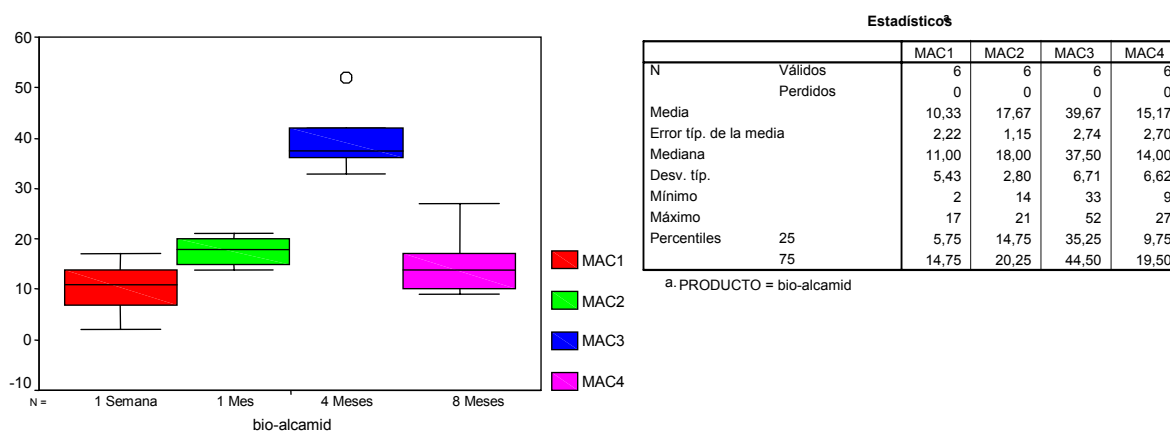


Fig.4.36.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Bio-Alcamid en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido celular subcutáneo sobre los implantes de este tipo de poliacrilamida muestra en la primera y segunda supervivencias un grosor próximo al límite bajo de valores obtenidos en los grupos control y placebo. Al cabo de cuatro meses se aprecia un adelgazamiento marcado, alcanzándose al cabo de ocho meses atrofia del mismo (Fig.4.37).

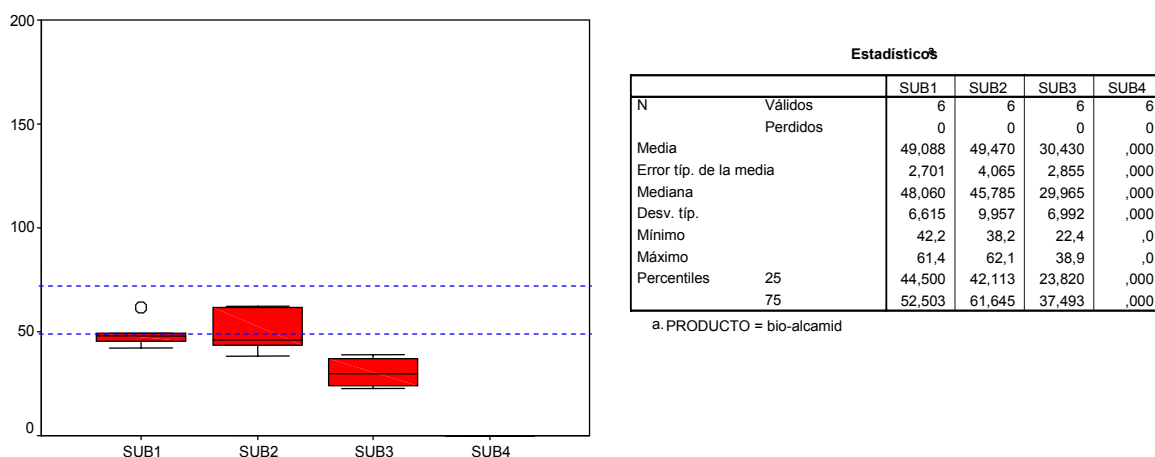


Fig.4.37.- Grosor del tejido subcutáneo (μm) en los implantes de Bio-Alcamid (semana 1, $n=6$; mes 1, $n=6$; mes 4, $n=6$; mes 8, $n=6$). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

El Bio-Alcamid induce la formación de una cápsula fibrosa alrededor del implante a partir de las cuatro semanas [17 (16-20)], aumentando de forma progresiva a lo largo de la tercera [19 (13-26)] y cuarta supervivencias [25 (22-32)] (Fig.4.38).

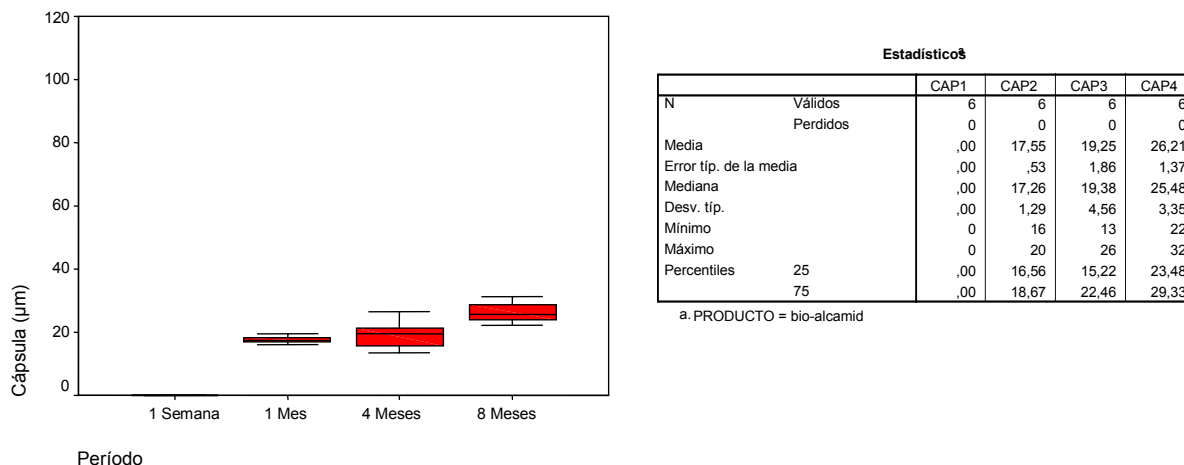


Fig.4.38.- Grosor de la cápsula formada alrededor del implante (μm) de Bio-Alcamid (semana 1, $n=6$; mes 1, $n=6$; mes 4, $n=6$; mes 8, $n=6$). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En lo que respecta a la variación de volumen del implante a lo largo del tiempo, los implantes de Bio-Alcamid muestran una ligera disminución tanto de longitud como de espesor entre la primera [longitud 15 (14-18); espesor 1,8 (1,3-2,9)] y la última supervivencias [longitud 12 (10-16); espesor 1,5 (1,4-2,1)] (Fig.4.39).

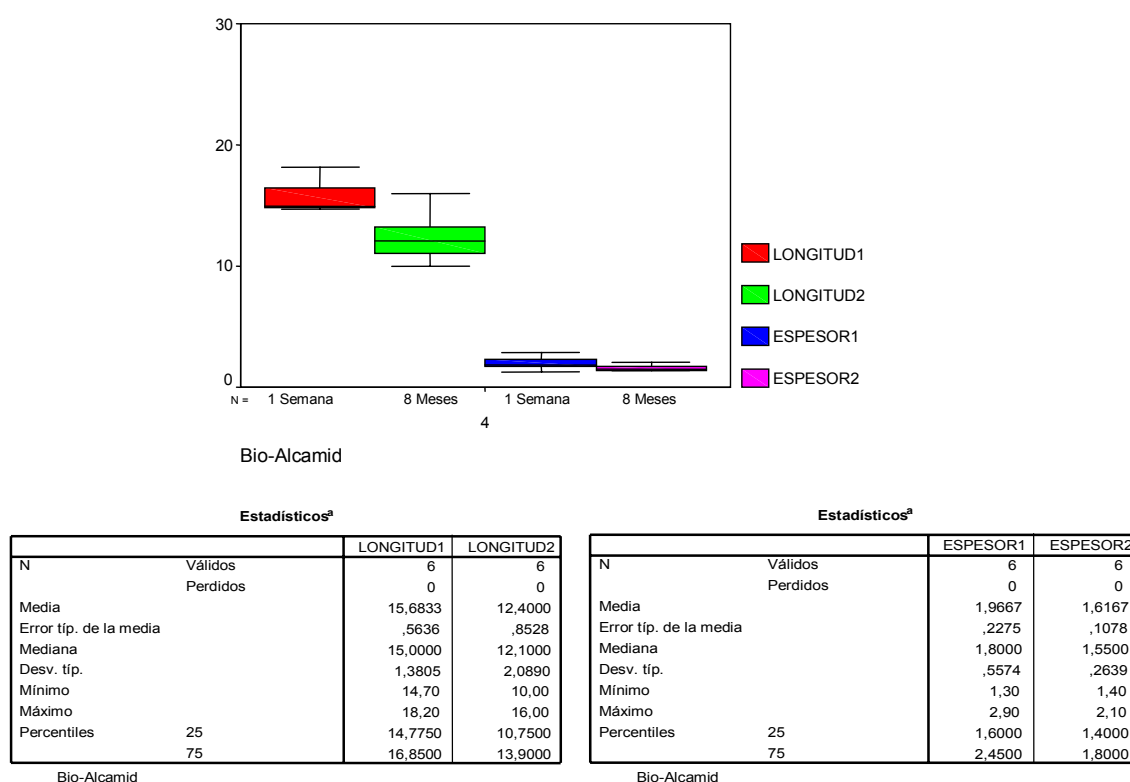


Fig.4.39.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de Bio-Alcamid en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min-max).

IV.3.2.- POLIMETILMETACRILATO

IV.3.2.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.3.2.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

No se observaron signos de infección, inflamación o necrosis, ni otras alteraciones en la piel que recubría los implantes de Artecoll, a lo largo de las supervivencias estudiadas. Se observó una disminución en el volumen del implante, siendo difícil de detectar a la palpación al cabo de ocho meses, apareciendo el producto formando pequeños nódulos subcutáneos de aspecto perlado. A la palpación se apreciaba una mayor induración del implante al final

de la última supervivencia. No se observó migración del implante del punto inicial de inyección.

IV.3.2.1.2.- ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO:

- a. Semana 1: La reacción tisular al Artecoll se caracteriza por una rápida integración del polimetilmetacrilato en el lugar de implantación, apareciendo las microesferas rodeadas por una matriz de colágeno ya desde la primera supervivencia. En el interior del implante se observa la presencia de macrófagos alrededor de las microesferas, no apreciándose fagocitosis de las mismas. (Fig.9.6)
- b. Semanas 4 a 16: A los 30 días el implante se encuentra infiltrado por una matriz de colágeno con macrófagos, fibroblastos y células gigantes así como capilares funcionales de pequeño tamaño. Alrededor del implante existe una cápsula fibrosa fina (Fig.9.16). Al cabo de cuatro meses la matriz presenta un mayor grado de estructuración, con fibras más grandes y más densas que encapsulan y separan las microesferas en compartimentos más o menos definidos. Existe además un engrosamiento de la cápsula periférica (Fig.9.26), con atrofia del tejido celular subcutáneo.
- c. Semana 32: Persiste la presencia de histiocitos y células gigantes así como de los capilares que aumentan tanto de número como de tamaño. No se aprecia aumento de la distancia entre las microesferas. Existe aumento del grosor de la cápsula fibrosa y persiste la atrofia del tejido celular subcutáneo (Fig.9.36).

IV.3.2.2.-ANÁLISIS CUANTITATIVO/ HISTOMORFOMÉTRICO:

El Artecoll presenta un recuento celular muy alto dentro del implante ya desde la primera supervivencia [93(39-115)], con un aumento notable en el segundo período [147 (68-176)] y alcanzando su valor máximo al cabo de cuatro meses tras la implantación [176 (175-183)]. En la última supervivencia

se produce una disminución moderada en el recuento total de células dentro del implante [122 (102-191)] (Fig.4.30).

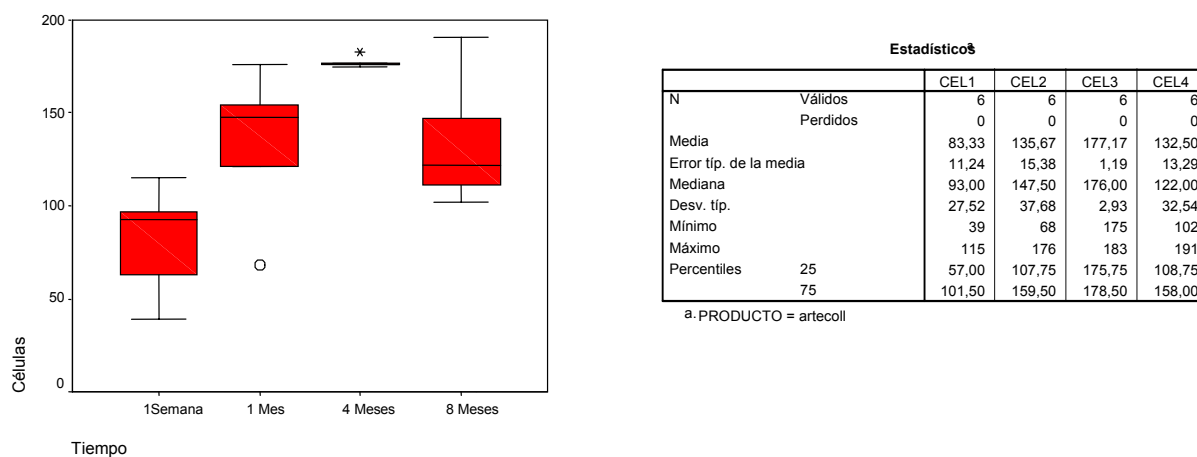


Fig.4.40.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Artecoll y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Los implantes de polimetilmetacrilato presentan un claro predominio del componente macrofágico/histiocítico, si bien existe un aumento progresivo en la proporción de células de tipo fibroblástico hasta los ocho meses. Cabe destacar asimismo, en comparación con otros materiales estudiados, el notable número de células gigantes de cuerpo extraño, presentes ya desde las cuatro semanas, que mantienen una proporción constante, dentro del número total de células, hasta los ocho meses (Fig.4.41).

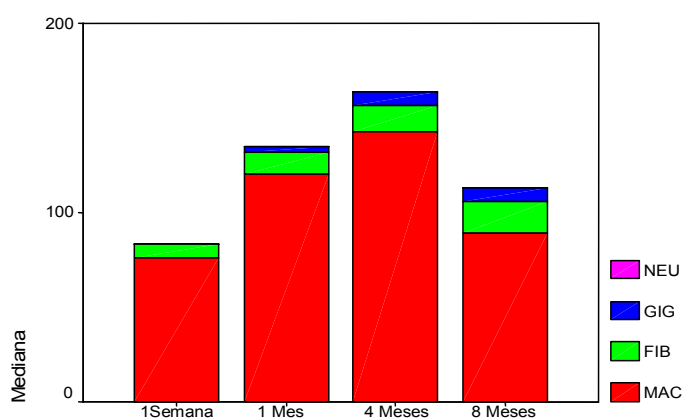


Fig. 4.41.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de Artecoll por supervivencias.

La distribución del recuento de células de tipo macrófago, sigue una progresión paralela a la del número total de células, con un aumento importante de su densidad en el interior del implante, desde la primera semana [76 (33-98)] hasta los cuatro meses [89 (76-146)], y posterior descenso en la última supervivencia [89 (76-146)] (Fig.4.42).

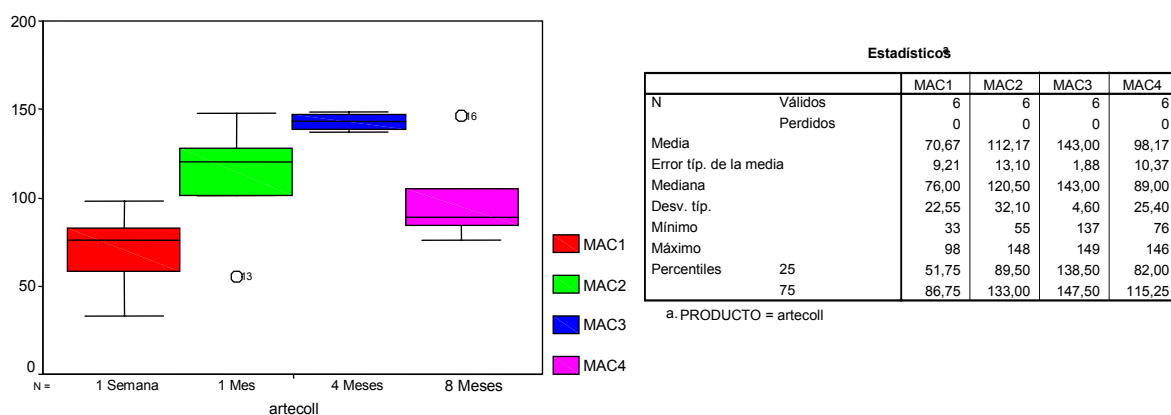


Fig.4.42.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de polimetilmetacrilato en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido celular subcutáneo presenta una disminución muy importante de grosor en las dos primeras fases estudiadas con respecto a los grupos control y placebo [25 μ m (20-26) en la primera semana y 21 μ m (19-25) al cabo de un mes]. Posteriormente se produce atrofia del plano correspondiente al tejido subcutáneo, no pudiendo identificarse la presencia del mismo entre la dermis y el implante, ni en la tercera ni en la cuarta supervivencias (Fig.4.43).

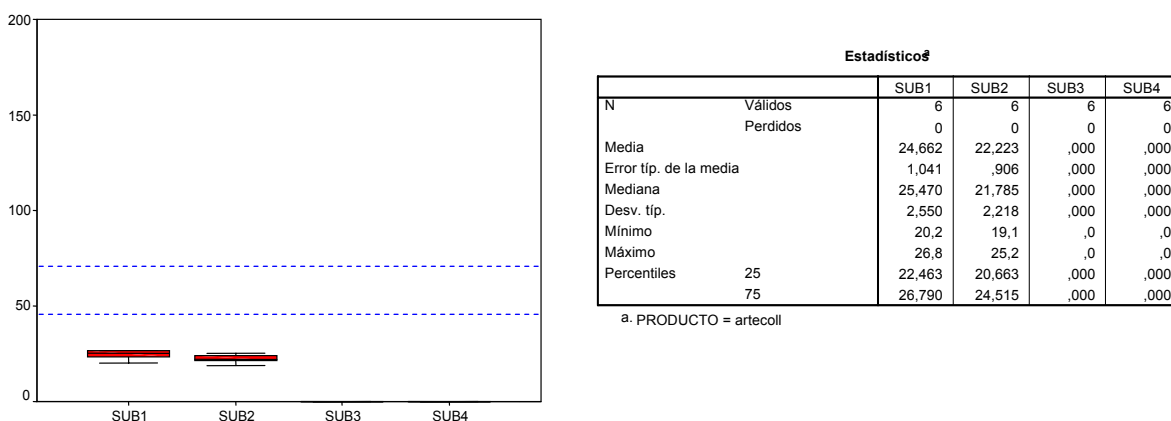


Fig.4.43.- Grosor del tejido subcutáneo (μ m) en los implantes de polimetilmetacrilato (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

En este producto se realizó asimismo el recuento de microesferas por campo en el interior de los implantes, observándose una disminución lentamente progresiva en su número desde la primera semana [136 (126-140)] hasta el último período evaluado [85 (82-88)] (Fig.4.44). La diferencia observada entre la primera y última supervivencias es estadísticamente significativa ($p=0,027$).

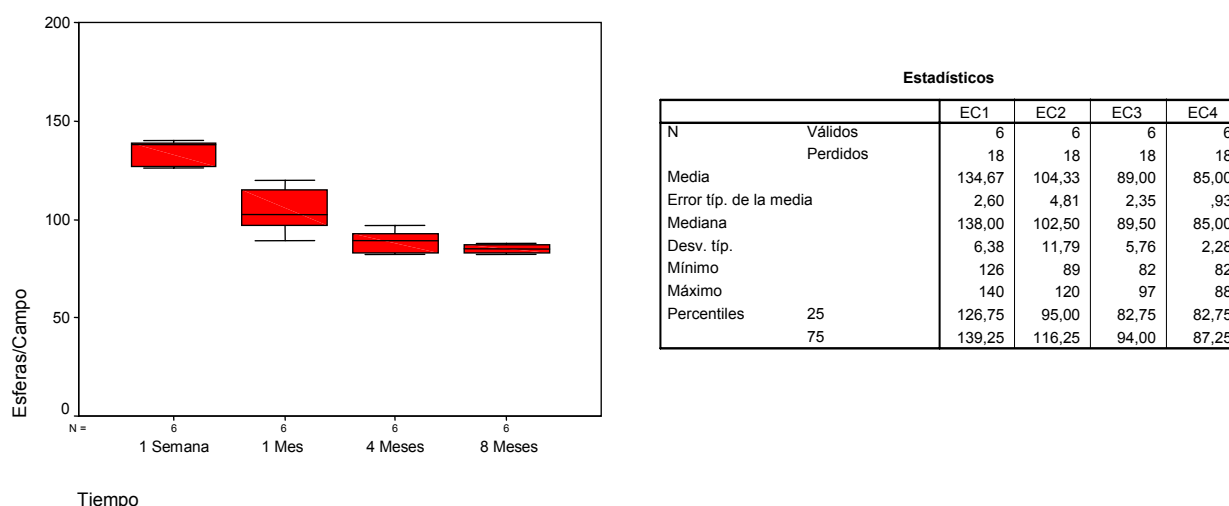


Fig.4.44.- Recuento del número de esferas de polimetilmetacrilato por campo (n) en el interior de los implantes de Artecoll en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Los implantes de Artecoll inducen la formación de una cápsula alrededor del producto apreciable al cabo de cuatro meses [18(14-22)], que no está aumentada de grosor de forma significativa al cabo de ocho meses [21 (16-25)] (Fig.4.45).

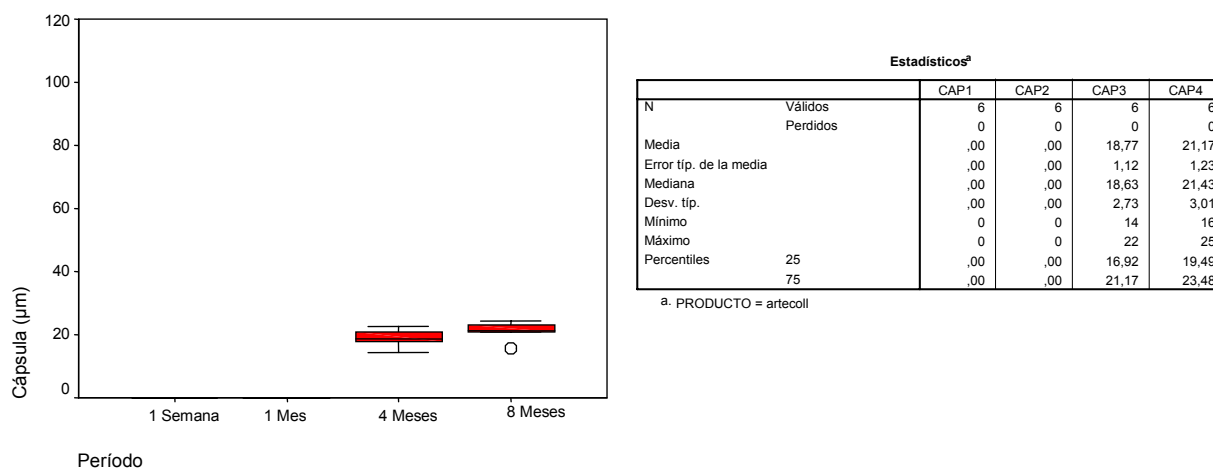


Fig.4.45.- Grosor de la cápsula formada alrededor de los implantes (µm) de Artecoll (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Con respecto al volumen, el polimetilmetacrilato muestra una clara disminución de la longitud del implante entre la primera [11 (8-13)] y la última supervivencias [6 (5-8)], mientras que se aprecia un ligero aumento de espesor del mismo en los mismos períodos [primera semana 0,5 (0,4-0,6); ocho meses 1,3 (0,8-2,1)] (Fig. 4.46).

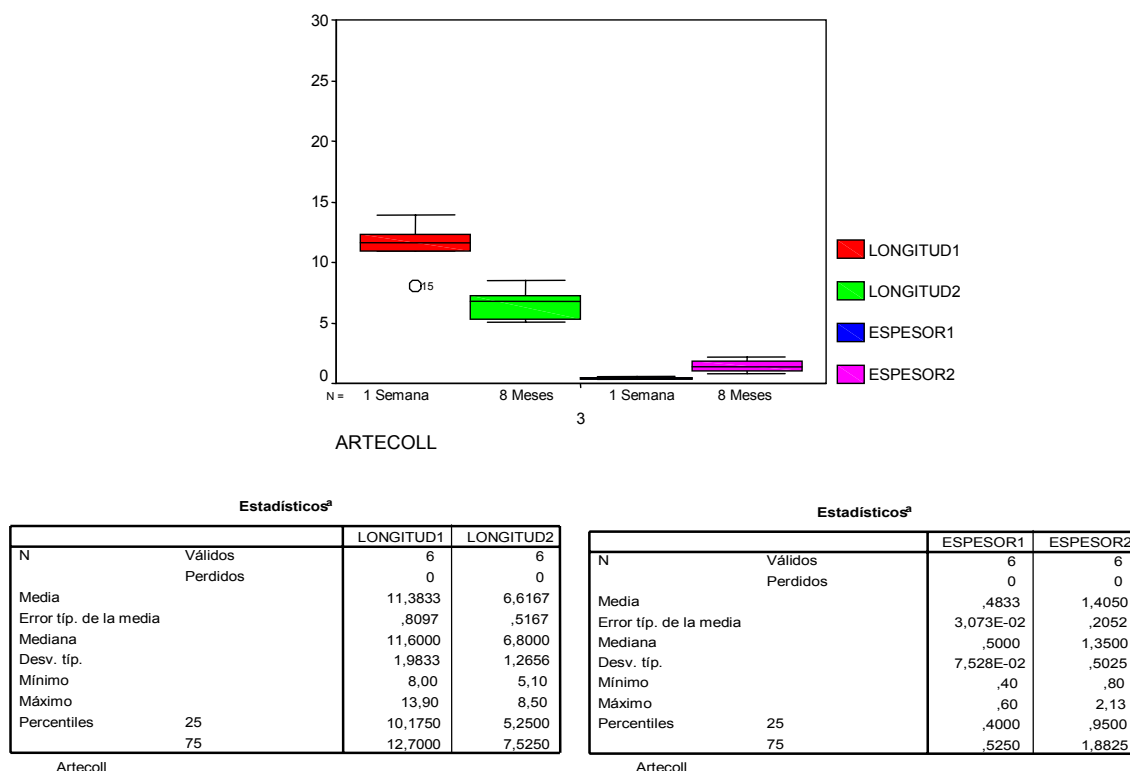


Fig.4.46.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de polimetilmetacrilato en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.3.3.- POLITETRAFLUOROETILENO (GORE-TEX)

IV.3.3.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.3.3.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

Los implantes de Gore-Tex eran palpables con dificultad a lo largo de todas las supervivencias si bien no se apreciaron variaciones significativas en su volumen a lo largo del tiempo. Las heridas quirúrgicas realizadas para la implantación del material evolucionaron favorablemente sin observarse signos de infección ni extrusión de los implantes. Tampoco se observó migración del

implante ni alteraciones en su textura a los ocho meses tras la implantación (Fig.4.47).

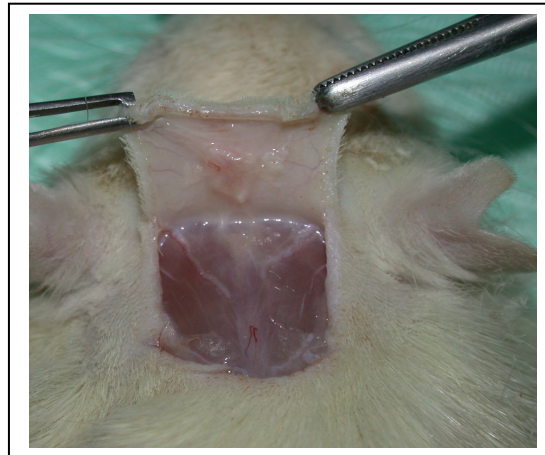


Fig. 4.47.- Imagen del implante subcutáneo de Gore-Tex ocho meses tras la inyección del material.

IV.3.3.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO/ HISTOPATOLÓGICO:

- a. Semana 1: El Gore-Tex induce un gran aumento en el grosor del tejido subcutáneo, que presenta aspecto edematoso, con una matriz de colágeno muy laxo en la que se aprecia una alta celularidad, de mayor densidad en la zona de contacto con el implante. Se observa desde la primera supervivencia la infiltración celular a través de los poros y espacios internodales del politetrafluoroetileno, fundamentalmente por células de aspecto macrófago y polimorfonucleares neutrófilos, siendo la presencia de estas últimas células significativamente mayor que en el resto de productos. Consideramos que tanto el edema tisular como la presencia de PMN al cabo de una semana, son consecuencia del trauma quirúrgico inflingido a los tejidos para la implantación del material, que induce una reacción inflamatoria más prolongada que en otros materiales analizados (Fig.8.8).

- b. Semanas 4 a 16: Al cabo de un mes la reacción en el tejido circundante es mínima y circunscrita a lo largo de la superficie del implante con predominio de macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño. Asimismo se aprecia la formación de una fina cápsula fibrosa a este nivel. Dentro del implante existe un infiltrado inflamatorio leve con histiocitos, fibroblastos y células gigantes, así como ocupación parcial del intersticio por fibras de colágeno. Tanto a nivel perilesional como dentro del material de relleno, se aprecia la existencia de pequeños capilares (Fig.9.18).

A los cuatro meses la reacción inflamatoria en la periferia del material de relleno permanece más o menos estable, con histiocitos y células gigantes y aumento del grosor de la cápsula fibrosa que lo rodea. Dentro del implante se aprecia un aumento del infiltrado a nivel de los espacios internodales por células del tejido conectivo y un aumento de la matriz de colágeno a dicho nivel (Fig.9.45). Cabe destacar la aparición, en algunas de las muestras de esta supervivencia y fundamentalmente en los extremos del implante, de una reacción tisular intensa con gran infiltrado de macrófagos y células gigantes de cuerpo extraño, apreciándose la desestructuración y degradación del material de relleno probablemente debido a la fagocitosis y digestión del mismo por las células de la inflamación (Figs.9.28 y 9.44).

- c. Semana 32: Los cambios más notorios en la última supervivencia corresponden al aumento de grosor del tejido subcutáneo con respecto a la supervivencia previa. El infiltrado celular inflamatorio dentro y alrededor del implante sigue siendo leve, sin modificaciones significativas con respecto a lo observado en los otros períodos. La cápsula fibrosa que rodea el implante aparece menos gruesa y constituida por haces de colágeno de mayor densidad que la observada en la supervivencia previa (Fig.9.38).

IV.3.3.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

El Gore-Tex muestra un grado de infiltración bajo a lo largo de todas las supervivencias, disminuyendo moderadamente entre la primera semana [40 (15-84)] y el primer mes [18 (5-31)], para mantenerse en un nivel casi constante a lo largo del tercer [13(11-21)] y cuarto períodos [16 (8-32)] (Fig.4.48).

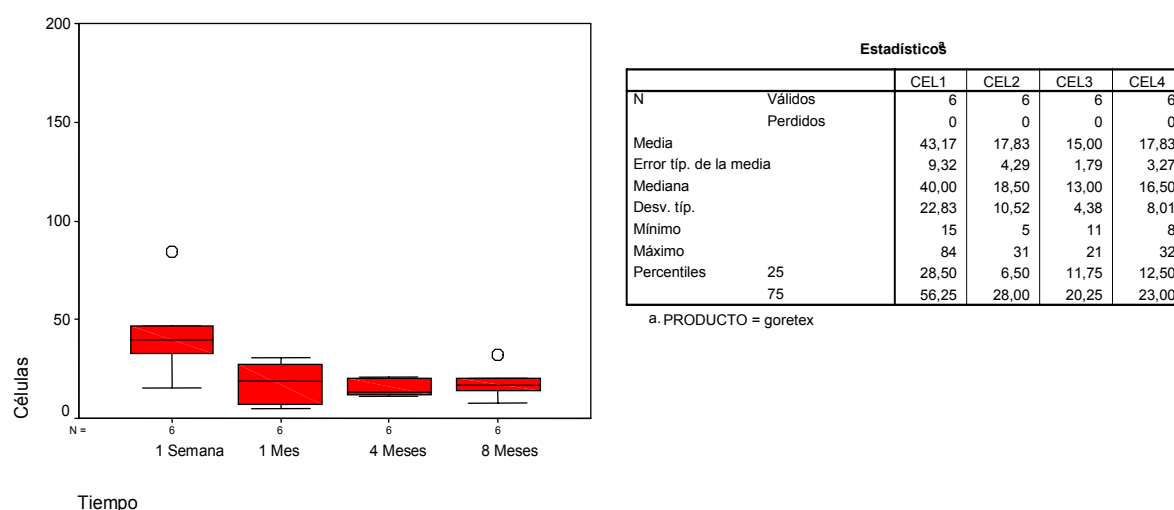


Fig.4.48.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Gore-Tex y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En el análisis por estirpes el Gore-Tex presenta, en la primera supervivencia, un infiltrado con predominio de macrófagos pero existiendo una proporción considerable de polimorfonucleares neutrófilos. A partir de la cuarta semana disminuyó de forma notable la cantidad de histiocitos/macrófagos en el interior del implante. Por otro lado, también desde el segundo período, se pudo observar un infiltrado proporcionalmente muy importante de células gigantes que aumentó hasta los cuatro meses para disminuir ligeramente al cabo de ocho meses. En el tercer y cuarto períodos analizados, la proporción macrófagos-histiocitos/células gigantes es próxima a 1:1. Apenas se constató infiltrado por fibroblastos dentro del implante, siendo sólo apreciable al cabo de 4 y 16 semanas tras la introducción del material (Fig.4.49).

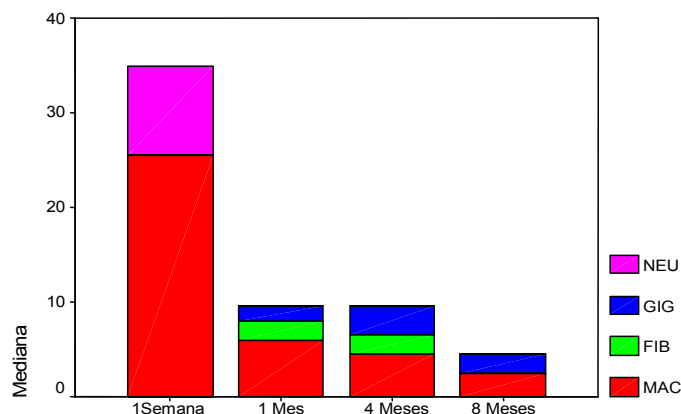


Fig. 4.49.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de Gore-Tex por supervivencias.

El recuento de células de estirpe macrofágica sufre un descenso progresivo a lo largo de todos los períodos evaluados, más marcado entre la primera [25 (8-64)] y segunda supervivencias [6 (1-11)], disminuyendo ligeramente entre los cuatro [5 (3-8)] y los ocho meses [3 (1-5)] (Fig.4.50).

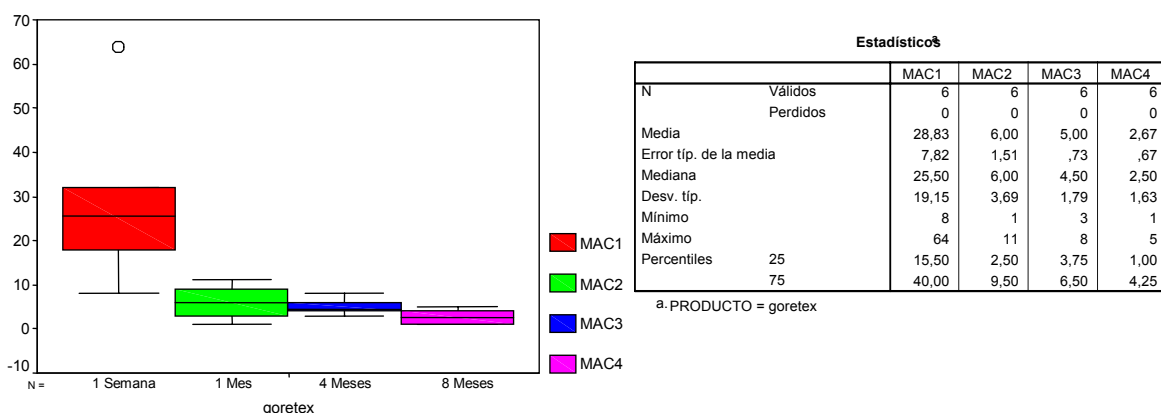


Fig.4.50.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Gore-Tex en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

El tejido celular subcutáneo sobre los implantes de Gore-Tex disminuye de grosor de forma progresiva hasta los cuatro meses, aumentando de nuevo al cabo de ocho meses hasta valores dentro del rango obtenido en los grupos control y placebo. En la primera semana el tejido subcutáneo aparecía enormemente engrosado [148 (91-292)], descendiendo de forma importante hasta los niveles del grupo control-placebo al cabo de un mes [47 (42-69)]. A los cuatro meses las muestras analizadas mostraron su nivel más bajo [15(13-

17)], con valores para esta variable inferiores a los niveles de referencia, pero a los ocho meses se evidenció un nuevo aumento del grosor del tejido subcutáneo [82 (46-110)] con valores algo superiores a los del grupo control y placebo (Fig.4.51).

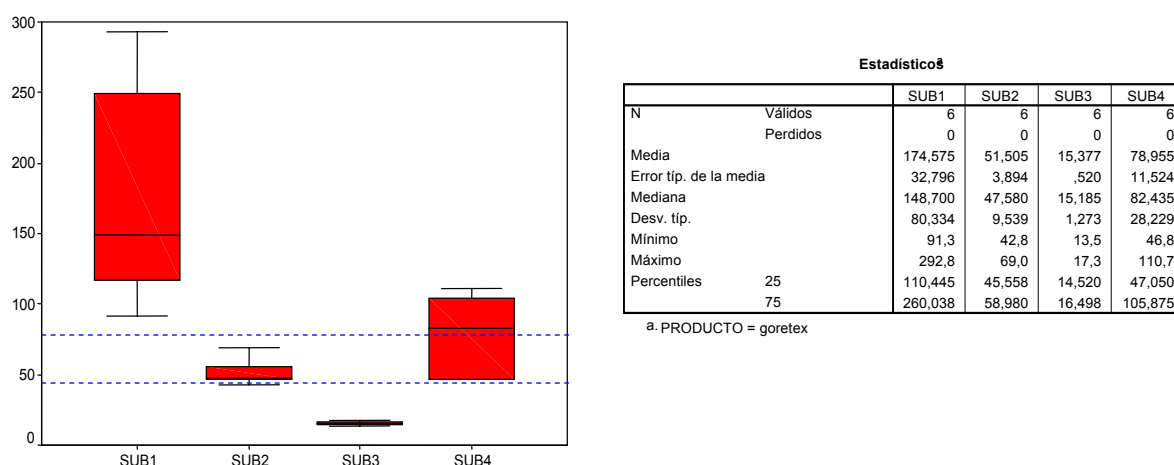


Fig.4.51.- Grosor del tejido subcutáneo (μm) en los implantes de Gore-Tex (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

La cápsula que rodea los implantes de Gore-Tex aumentó de grosor de forma más importante entre las cuatro semanas [14 (14-20)] y los cuatro meses post-implantación [62 (51-79)]. A los ocho meses el espesor de la misma disminuyó hasta valores próximos a los observados al cabo de un mes [18 (16-25)] (Fig.4.52).

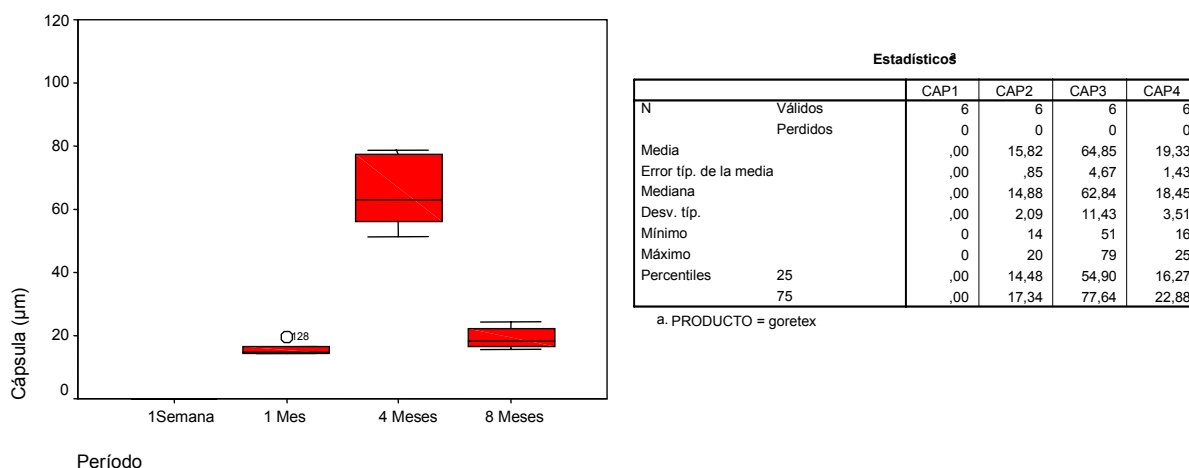


Fig.4.52.- Grosor de la cápsula formada alrededor de los implantes (μm) de Gore-Tex (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Los implantes de este derivado del politetrafluoroetileno, no sufren modificaciones ni de longitud [primera semana 5 (4-6); ocho meses 4 (4-5)] ni de espesor [primera semana 0,45 (0,41-0,48); 0,42 (0,38-0,49)] a lo largo de los períodos evaluados (Fig.4.53).

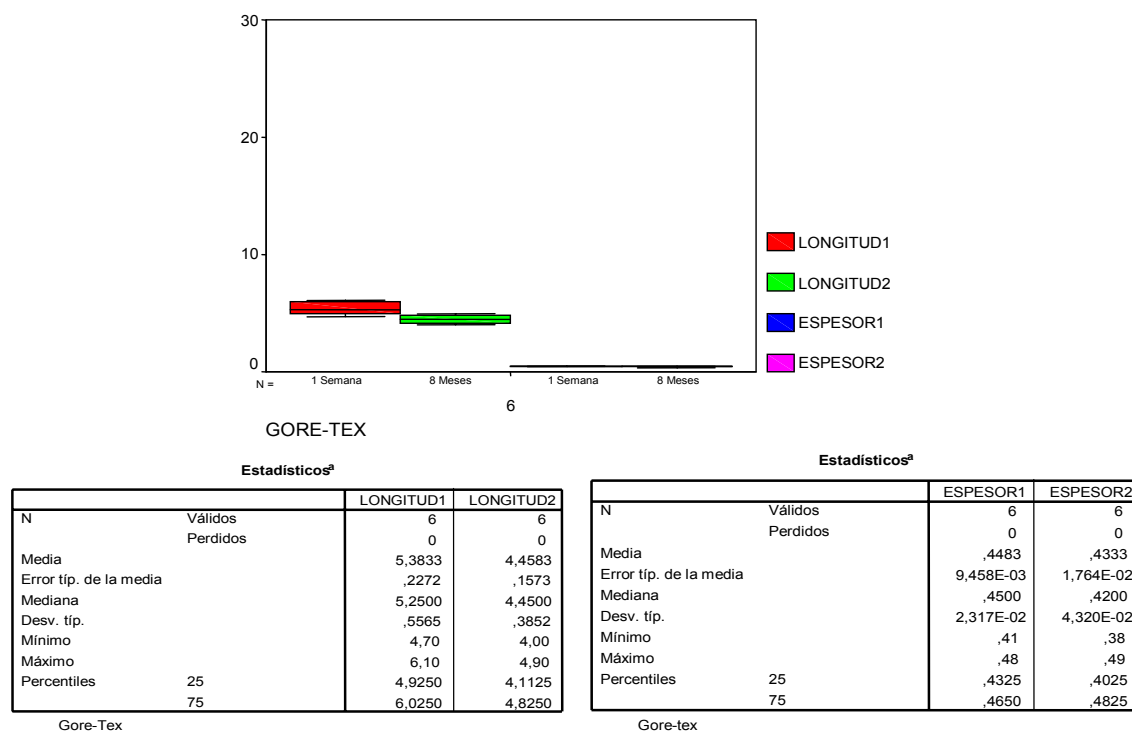


Fig.4.53.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de Gore-Tex en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.3.4.- SILICONA

IV.3.4.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.3.4.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

Desde el punto de vista macroscópico no se observa migración del producto fuera de la región interauricular. El habón de implante era identificable al cabo de ocho meses es esta zona sin modificación aparente del volumen del producto (Fig.4.54). Con respecto a la textura del implante, se observa un endurecimiento del mismo asociado a un engrosamiento de la piel que lo recubre adquiriendo ésta una consistencia de aspecto gomoso, que la hacía

especialmente difícil de cortar durante el procesado histológico de las muestras. No existen otra alteraciones en la piel que recubría los implantes de silicona.

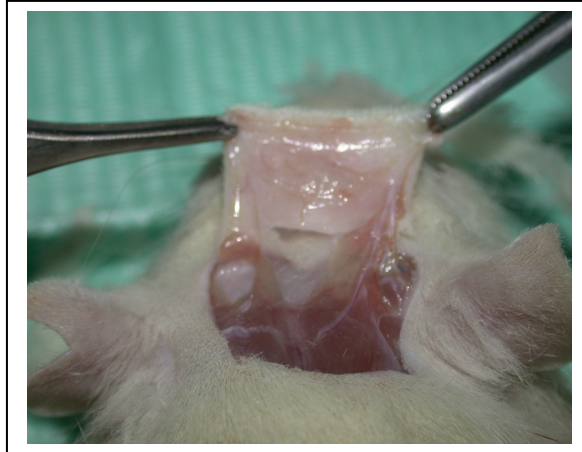


Fig. 4.54.- Imagen del implante subcutáneo de Silicona a los ocho meses tras la implantación del material.

IV.3.4.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO/ HISTOPATOLÓGICO:

- a. Semana 1: Las características químicas de la silicona líquida hacen que durante el procesado histológico de los implantes se disuelva el producto. La falta de infiltración por parte de tejido conectivo del huésped hace que no se encuentre producto en las muestras evaluadas. Tan sólo observamos un aumento de la celularidad a nivel del tejido celular subcutáneo (Fig.9.9).
- b. Semanas 4 a 16: Al cabo de cuatro semanas la piel infiltrada presenta un mayor grosor que en el resto de las muestras obtenidas con otros materiales de relleno. También la consistencia de la misma es mayor y de aspecto gomoso. Durante el procesado histológico se pierde el producto por disolución, observándose la existencia de los espacios lacunares que ocupaba la silicona inyectada a nivel dérmico. Estos espacios están delimitados por una cápsula fibrosa periférica fina. El gel

de silicona presenta un alto grado de difusión a través de las capas tisulares de la piel de la rata, localizándose tanto en dermis como por debajo del plano músculo cutáneo lo cual explica el grado de desestructuración de la arquitectura normal de la piel, a lo que se une la dificultad para realizar los cortes por la mayor dureza de la misma. Existe un importante grado de infiltrado tisular, tanto por células gigantes a cuerpo extraño como por histiocitos. El gel de silicona puede ser fagocitado por los macrófagos tisulares a través de vesículas de pinnocitosis, adquiriendo el citoplasma un aspecto característico que lleva a denominarlos histiocitos espumosos (Fig.9.19 y 9.46). Estas células tienen el núcleo excéntrico, recordando su morfología a la de las células adiposas del tejido graso.

Al cabo de cuatro meses aumenta el grado de infiltrado inflamatorio, tanto de histiocitos espumosos como de células gigantes. El grosor de la cápsula fibrosa que rodea las lagunas es mayor, y en ocasiones esta fibrosis se hace muy llamativa tomando el aspecto de nódulos fibrosos (Fig.9.29).

Existe un notable grado de vascularización a nivel de los implantes más marcado en la segunda supervivencia. Asimismo se aprecia una disminución en el grosor del espacio subcutáneo.

- c. Semana 32: A los ocho meses tras la implantación se acentúan los signos propios de un proceso inflamatorio crónico. El grado de fibrosis aumenta con la presencia de nódulos fibrosos y aumento del grosor de la cápsula fibrosa perilacunar (Fig.9.47). El infiltrado inflamatorio está constituido en su mayor parte por células de tipo histiocítico, observándose también un progresivo aumento del número de células gigantes y del grado de vascularización dentro del implante. En algunas muestras se observa una importante infiltración del tejido dérmico por histiocitos espumosos con una desestructuración importante de la piel (Fig.9.39).

IV.3.4.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO/HISTOMORFOMÉTRICO:

En nuestro estudio observamos que los implantes de silicona presentan un infiltrado celular alto dentro del implante. En la primera supervivencia no se pudo realizar el recuento por la disolución del producto durante el procesado. Al cabo de un mes existe un recuento de células inflamatorias muy alto [140 (113-160)], disminuyendo al cabo de cuatro meses [101 (84-128)]. En el último período evaluado, al cabo de ocho meses, el infiltrado celular persiste muy elevado [122 (84-153)] (Fig.4.55).

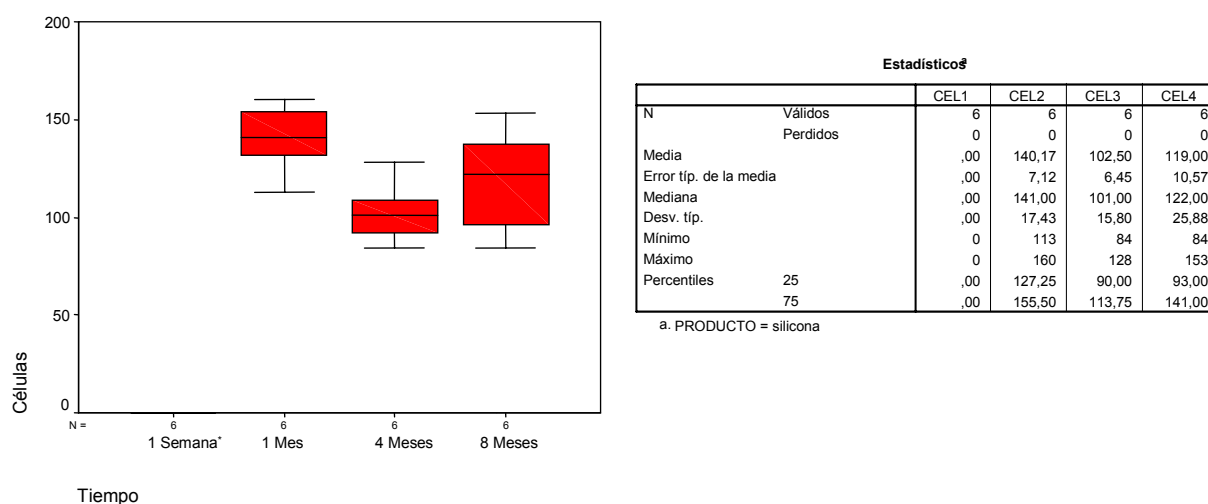


Fig.4.55.- Recuento celular total (n) en el interior de los implantes de Silicona y evolución a lo largo del tiempo (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

En el análisis por estirpes celulares existe un claro predominio del componente macrofágico/histiocítico a lo largo de todos los períodos evaluados. Sin embargo la proporción de esta estirpe celular disminuye al cabo de ocho meses, con un aumento relativo de fibroblastos y células gigantes tanto en la tercera como en la cuarta supervivencias (Fig.4.56).

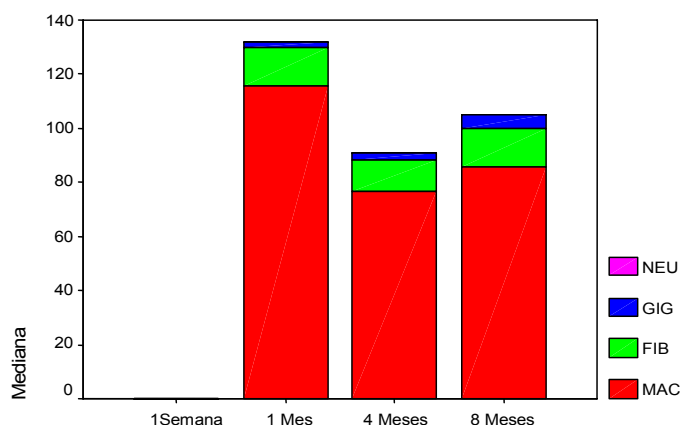


Fig. 4.56.- Distribución por estirpes celulares del recuento de infiltrado mononuclear en los implantes de Silicona por supervivencias.

El número de histiocitos/macrófagos dentro de los implantes de silicona experimenta un descenso marcado entre la segunda y la tercera supervivencias. En el último período evaluado existe un aumento moderado en comparación con el período de cuatro meses (Fig.4.57).

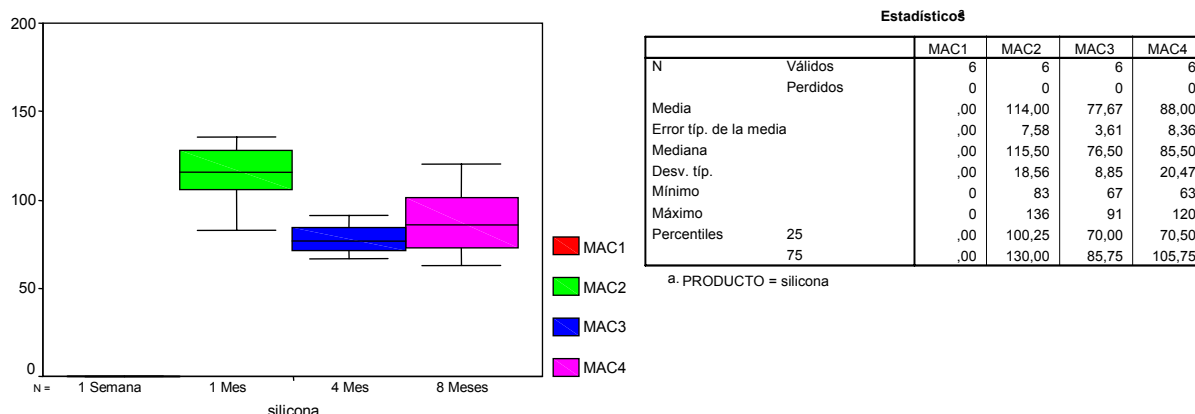


Fig.4.57.- Recuento de macrófagos/histiocitos (n) en el interior de los implantes de Silicona en las distintas supervivencias estudiadas (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

La silicona induce una disminución importante del tejido celular subcutáneo sin llegar al grado de atrofia. Este descenso es más significativo entre la primera semana [67 (49-76)] y el primer mes [18 (0-32)] tras la infiltración del material, momento a partir del cual los valores de esta variable se mantienen por debajo de los obtenidos en los grupos control y placebo y en niveles prácticamente constantes hasta el último periodo analizado [cuatro meses 14

(10-28); ocho meses 20 (8-34)]. En ninguno de los periodos se alcanza el grado de atrofia observado con otros productos (Fig.4.58).

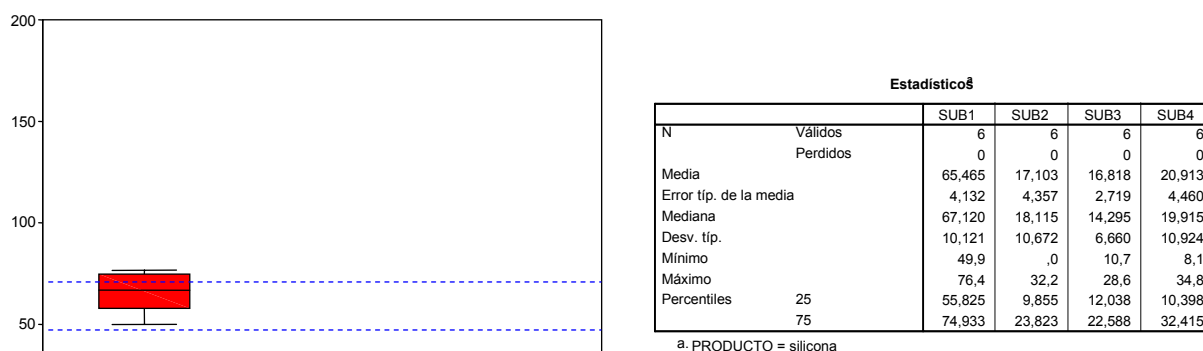


Fig.4.58.- Grosor del tejido subcutáneo (µm) en los implantes de Silicona (semana 1, n=6; mes 1, n=6; mes 4, n=6; mes 8, n=6). Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos Control y Placebo.

En las mediciones realizadas de la longitud y el espesor de los implantes de silicona no se observaron diferencias significativas entre la primera semana y los ocho meses tras la infiltración del producto (Fig.4.59).

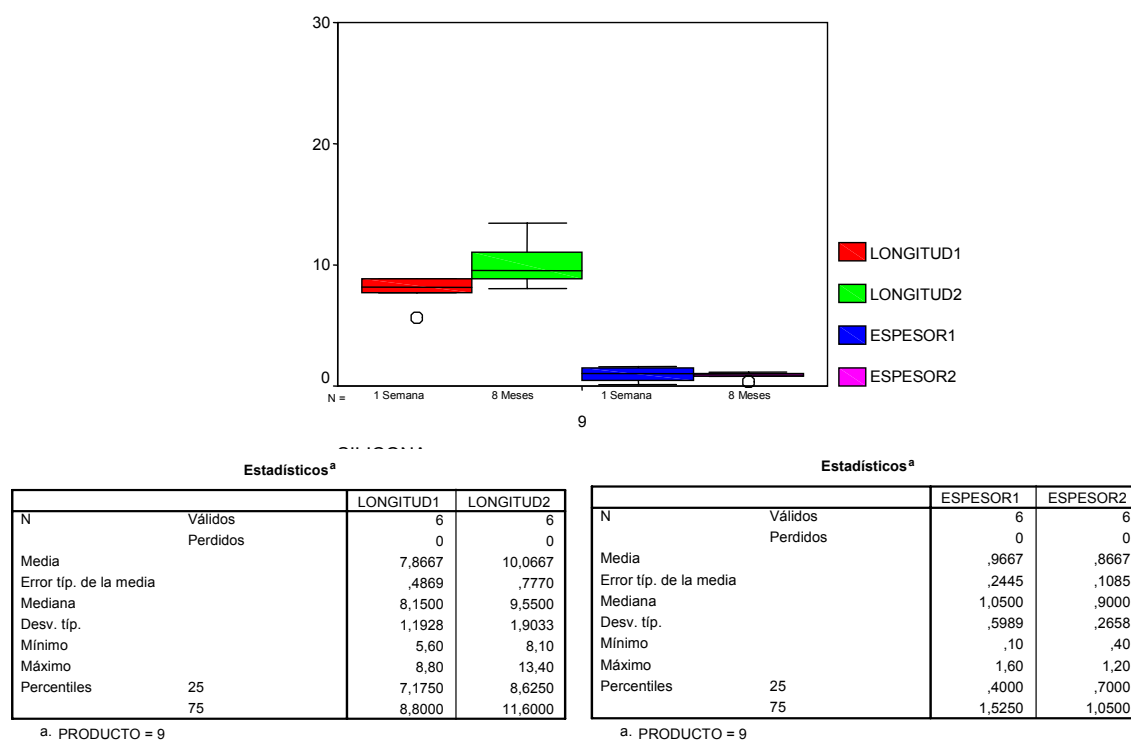


Fig.4.59.- Longitud (mm) y Espesor (mm) del habón de los implantes de Silicona en la primera semana y a los ocho meses. Los resultados se expresan en forma de medianas (min- max).

IV.4.- ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

IV.4.1.- ANÁLISIS CUALITATIVO:

IV.4.1.1.- ANÁLISIS MACROSCÓPICO:

- a. Integridad de la piel: en ninguno de los productos estudiados se han observado cambios macroscópicos en la piel que recubre los implantes. En todos aquellos animales en que fue precisa la realización de bolsillos subcutáneos, las heridas evolucionaron normalmente sin observarse signos de infección ni de extrusión del implante.
- b. Evolución de los habones de implante: Todos los materiales biológicos eran identificables al cabo de 8 meses tras la implantación, excepto el Hyaluderm que se reabsorbe en 48 horas. En el caso de la grasa y el Perlane no se apreciaron modificaciones significativas de volumen entre la primera y la última supervivencia evaluadas. Del resto de materiales, la agarosa fue el producto cuyo volumen sufrió menor variación, seguido por el colágeno, más difícilmente palpable en el último período, y por último el Hyaluderm, que como ya hemos indicado no es identificable pasadas 48 horas de su infiltración.

De los productos de origen sintético, todos ellos excepto el Artecoll, eran identificables a la palpación al cabo de 8 meses. Tanto el Aquamid, como el Bio-Alcamid, el Gore-Tex o la silicona, eran objetivables a la inspección o a la palpación al final del último período evaluado. En el caso del Gore-Tex los habones eran visualmente poco evidentes y se palpaban con dificultad en todas las supervivencias, como consecuencia del escaso espesor de la lámina de producto implantada. En lo que se refiere a modificaciones de volumen, el Bio-Alcamid sufre una disminución moderada de volumen entre la primera semana y los ocho meses, mientras que el Artecoll sufre una disminución progresiva a lo

largo del tiempo, no siendo identificables desde el punto de vista macroscópico en la última supervivencia. El resto de materiales no sufre cambios significativos en el tamaño del habón.

En lo que respecta a las modificaciones de textura de los implantes, éstos se constataron en un solo producto de origen orgánico, el colágeno, y en tres de naturaleza sintética, el Aquamid, el Artecoll y la silicona. En el caso del Artecoll el endurecimiento del implante se asocia a una modificación en la disposición del material, adoptando el aspecto de pequeñas perlas de producto, agrupadas en el área de implantación. Asimismo, en el caso de la silicona, y por su capacidad de invasión de todas las estructuras cutáneas, su endurecimiento va ligado al engrosamiento de la piel, adquiriendo ésta una consistencia gomosa.

En ninguno de los diez productos estudiados se ha producido migración fuera del lugar de implantación, la región interauricular.

IV.4.1.2.- ANÁLISIS MICROSCÓPICO:

El análisis microscópico nos permite tomar contacto con lo que está sucediendo bajo la superficie cutánea entre los productos de relleno y los tejidos del huésped. Hemos podido analizar el tipo de reacción inflamatoria a través de la identificación del tipo de células presentes en el implante y su persistencia a lo largo de las distintas supervivencias, la presencia de capilares y la formación de cápsula fibrosa. Por otro lado, la simple observación microscópica nos ha permitido ver en cada caso si existen modificaciones aparentes tanto del producto como del tejido celular subcutáneo circundante.

IV.4.1.2.1.- MATERIALES DE RELLENO DE ORIGEN ORGÁNICO:

- En la primera supervivencia es común la presencia de una reacción inflamatoria aguda, evidenciándose un claro predominio de macrófagos en el interior del implante. Dicha reacción es más intensa en el caso de los implantes de colágeno y de Perlane con presencia, además de los macrófagos en ambos productos, de fibroblastos en el colágeno y

polimorfonucleares neutrófilos en el Perlane. Creemos que los materiales de origen orgánico que inducen mayor reactividad aguda en la primera supervivencia son el colágeno y el Perlane. En este último producto se aprecia además una capa de fibroblastos que rodea el producto, lo que indica el inicio de la formación temprana de la cápsula. El único material en el que se observó una alteración en la celularidad a nivel del tejido celular subcutáneo fue el Hyaluderm. En este producto se pudo apreciar la presencia de cambios degenerativos en la fibras musculares próximas al implante en cuatro de los seis animales a los que se les implantó el material, a pesar de que en sólo uno de ellos se pudo objetivar la presencia del mismo.

- Entre las cuatro semanas y los cuatro meses, en lo que se refiere a la *estabilidad de los implantes*, pudimos observar de forma evidente la fagocitosis y sustitución del implante por tejido neoformado rico en vasos, exclusivamente en el caso de los implantes de agarosa. Por último, en el caso del Hyaluderm, persisten las modificaciones degenerativas de las fibras musculares, coexistiendo en estos períodos con áreas de regeneración muscular. Con respecto al *tipo de reactividad tisular*, existe un descenso evidente del infiltrado celular en el Perlane y la grasa, manteniéndose en el caso del colágeno y aumentando en el caso de la agarosa. La presencia de células gigantes sólo se apreció en este último material. De los materiales de origen orgánico sólo se observó la presencia de cápsula alrededor de los implantes de Perlane, siendo de escaso espesor y manteniéndose constante a lo largo de todos los períodos evaluados. El espesor del tejido celular subcutáneo se ve afectado en dos productos, el colágeno, con una ligera disminución, y la grasa, en la que se evidencia un aumento del mismo.
- Al cabo de ocho meses, en el *análisis de estabilidad* de estos materiales, hemos observado cambios en el aspecto de los implantes de agarosa, colágeno y Perlane. En el primero de ellos prosigue la sustitución del producto por tejido neoformado sin pérdida aparente de volumen; en el caso del colágeno se observa una evidente disminución de su volumen y en el Perlane se apreció una discreta condensación del producto. La *reactividad tisular* disminuye de forma moderada en el caso de la agarosa, con

presencia de histiocitos, fibroblastos y persistiendo la existencia de células gigantes, siendo a pesar de ello, el material orgánico que presenta mayor reacción tisular en este período. El infiltrado celular es bajo en el caso del colágeno y mínimo en el resto de sustancias. Al cabo de ocho meses el único material de origen orgánico que presenta cápsula periférica es el Perlane. Se observan modificaciones apreciables del espesor del tejido celular subcutáneo en los implantes de grasa, que aumenta de espesor, y en los de Perlane que aparecen ligeramente disminuidos.

IV.4.1.2.2.- MATERIALES DE RELLENO DE ORIGEN SINTÉTICO:

- En la primera supervivencia, en el análisis de *estabilidad del implante*, se apreció que en el caso del Artecoll comienza la formación de una matriz de colágeno alrededor de las esferas de polimetilmetacrilato, y en el Bio-Alcamid existen algunas porciones de producto rodeadas de macrófagos en un intento de fragmentación del mismo. En este período se observó la presencia de una *respuesta tisular* inflamatoria de tipo agudo en todos los productos, con predominio de células de tipo macrofágico. La reacción de los tejidos frente a los implantes de tipo sintético era más intensa en el caso del Aquamid, Artecoll y Gore-Tex. En los implantes de Aquamid y de Gore-Tex existe además la presencia de polimorfonucleares neutrófilos formando parte del infiltrado. El producto que induce una menor reacción inicial es el Bio-Alcamid.

Sólo se aprecia el comienzo de la formación de cápsula fibrosa en el Aquamid, en forma de una monocapa de fibroblastos alrededor del implante.

Finalmente hemos observado un aumento de la celularidad del tejido celular subcutáneo alrededor de los implantes de Bio-Alcamid y de Silicona.

- En la segunda y tercera supervivencias se observa que el Bio-Alcamid es el material de origen sintético con mayor *estabilidad de los implantes*. El Aquamid, Artecoll y Gore-Tex sufren invasión celular por parte de los tejidos circundantes, más intensa en los dos primeros, con fragmentación de los implantes por tejido neoformado rico en vasos. La alteración de los implantes de silicona se produce a expensas de la fragmentación por

fagocitosis, como demuestra la alta densidad de histiocitos de citoplasma espumoso en el interior del material. La *reactividad tisular* es marcadamente mayor en los implantes de Aquamid, Artecoll y Silicona, con un infiltrado celular en el que predominan los macrófagos. El Bio-Alcamid y el Gore-Tex inducen una menor reactividad en los tejidos en los que se introducen. Se observó la presencia de células gigantes en el interior de los implantes de Artecoll, silicona y Gore-Tex en ambas supervivencias. Todos los productos excepto la silicona inducen una reacción fibrosa alrededor del implante, con la formación de una cápsula de mayor grosor en el caso del Aquamid y del Gore-Tex.

El grosor del tejido celular subcutáneo está disminuido de forma más llamativa en los implantes de Aquamid, Bio-Alcamid, Artecoll y silicona, hasta el punto de existir atrofia del mismo a partir del cuarto mes en el caso del Artecoll.

- Al cabo de ocho meses se apreció que *todos los implantes sufren algún tipo de modificación* siendo los cambios más leves los del Bio-Alcamid. En el Gore-Tex persiste la invasión de los espacios internodales por tejido neoformado, asociándose en los extremos del implante pequeñas áreas de degradación del material. Las alteraciones observadas en el caso del Aquamid y del Artecoll son más intensas y debidas a la invasión de los implantes por tejido huésped rico en colágeno y capilares. La silicona presenta un denso infiltrado celular con fragmentación por fagocitos y tejido rico en colágeno y altamente vascularizado, que en ocasiones se dispone en forma de nódulos de aspecto granulomatoso. Las alteraciones observadas con este producto se extienden a todas las capas de la piel, debido a la difusión del material, observándose importantes alteraciones estructurales de la misma asociadas a la fibrosis previamente mencionada. Esta fibrosis determina además los cambios de textura de la piel que recubre este material. El Aquamid, el Artecoll y la Silicona mantiene una alta *reactividad tisular* con presencia de gran cantidad de histiocitos/macrófagos, mientras que el Bio-Alcamid y el Gore-Tex inducen una respuesta inflamatoria de menor intensidad. La presencia de células gigantes es constante en el caso de las muestras de Artecoll, silicona y Gore-Tex,

siendo más marcada en los dos primeros materiales.

Al cabo de ocho meses se apreció la presencia de cápsula alrededor del Bio-Alcamid, el Artecoll y el Gore-Tex, sin existir diferencias aparentemente importantes en el grosor de las mismas.

El tejido celular subcutáneo sufre atrofia en el caso del Artecoll y el Bio-Alcamid, con disminución marcada en el Aquamid y persistiendo en niveles próximos al de los grupos control y placebo en los implantes de Gore-Tex.

Para poder realizar una interpretación más precisa de los datos hasta ahora obtenidos que nos permita establecer un marco de comparación entre los materiales de origen orgánico y los de origen sintético, consideramos imprescindible profundizar en el análisis de las variables observadas en este apartado desde un punto de vista cuantitativo.

IV.4.2.- ANÁLISIS CUANTITATIVO:

IV.4.2.1.- MATERIALES DE ORIGEN ORGÁNICO:

En el *recuento celular* total en el interior de los implantes, considerado como indicio de reactividad celular, podemos comprobar que la Grasa es el material mejor tolerado, con ausencia de infiltrado inflamatorio desde la tercera supervivencia. De los otros productos estudiados el Perlane es el material que induce una menor reactividad tisular; este producto presenta una celularidad muy baja en la primera supervivencia y sigue una evolución progresivamente descendente hasta el último período analizado. Los implantes de agarosa son los que presentan una mayor densidad celular en su interior, si bien se observó una tendencia hacia la disminución del infiltrado inflamatorio al cabo de ocho meses. En el caso del colágeno, aunque las densidades celulares se sitúan en un rango intermedio entre los productos antes mencionados, la tendencia es creciente en la última supervivencia, lo que nos hace entender que la reacción inflamatoria se mantiene (Fig.4.60).

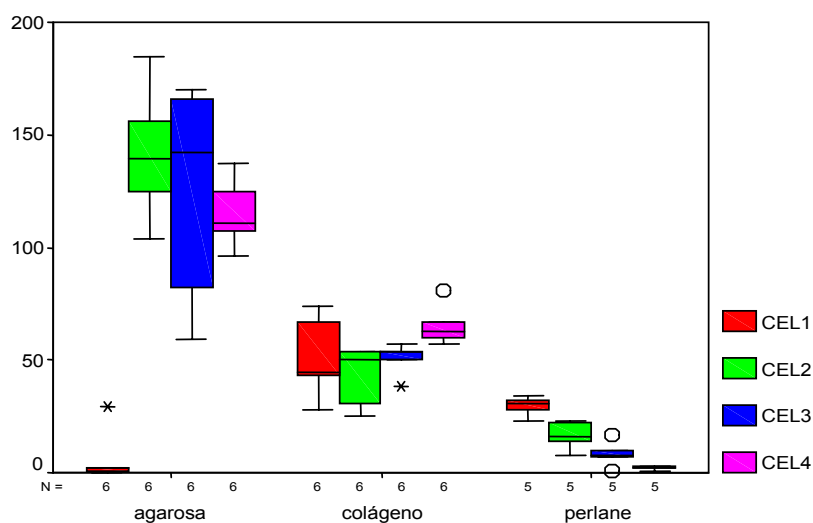


Fig.4.60.- Evolución de la densidad del infiltrado celular inflamatorio en el interior de los implantes de Agarosa, Colágeno y Perlane a lo largo del tiempo.

El análisis del *recuento por estirpes celulares* nos muestra que el Perlane induce una reacción inflamatoria de tipo agudo ya que las células identificadas en la primera supervivencia son mayoritariamente neutrófilos, los cuales descienden en número al cabo de cuatro semanas y desaparecen completamente al final del tercer período; la celularidad en la última supervivencia queda reducida a una cantidad exigua de macrófagos (Fig.4.21).

La agarosa debuta en la primera supervivencia con una celularidad mínima que aumenta de manera importante al cabo de cuatro semanas, existiendo un predominio importante del infiltrado macrofágico, seguido por el de fibroblastos y de células gigantes. Si bien la presencia de estas últimas indicaría que estamos ante la cronificación de la reacción inflamatoria, hemos de tener en cuenta que existe un descenso relativo de las mismas en el tiempo con respecto al resto de estirpes celulares, muestra de que la reacción inflamatoria crónica tiende a disminuir. Unido a este fenómeno, se observa un descenso progresivo de macrófagos en los sucesivos períodos (Fig.4.4), acompañado de un aumento proporcional del número de fibroblastos, lo que confirma que estamos asistiendo a la sustitución del producto por tejido fibroso neoformado, tal y como pudimos constatar en el análisis microscópico.

El colágeno mantiene en todas las supervivencias una proporción similar de macrófagos y de fibroblastos, sin embargo en el análisis microscópico no era

posible distinguir la presencia de fibras de colágeno neoformado (Figs. 4.62 a 4.65).

Los implantes de colágeno y agarosa son los únicos en los que existe *vascularización*, con un recuento de capilares por campo similar en ambos productos.

En el análisis del tejido celular subcutáneo los productos de origen orgánico muestran un comportamiento desigual destacándose, en la última supervivencia, que ninguno de los materiales produce atrofia del mismo y que los implantes de grasa presentan un aumento del grosor de esta capa cutánea [109µm (96-119)]. Se constató que, en esta última supervivencia, los implantes de agarosa no producen adelgazamiento del tejido celular subcutáneo [51µm (41-60)] con respecto a los grupos control y placebo mientras que, en los restantes materiales y en el mismo período, existe una disminución del grosor, de mayor intensidad en el colágeno [20µm (15-24)] y menor en el caso del Perlane [26µm (23-28)]. Cabe destacar igualmente que el Hyaluderm presenta al cabo de 48 horas unos valores para esta variable muy superiores a lo habitual [402(386-458)], pudiendo interpretarse como una edematización de esta capa debida al propio traumatismo de la inyección, o bien a la infiltración de la misma por el producto.

En todos los materiales de este grupo existen modificaciones en el *espesor del producto implantado* entre la primera y la última supervivencia, disminuyendo en el caso de la agarosa, la grasa y el colágeno, y aumentando mínimamente en el caso del Perlane. Además, de los cinco materiales estudiados, sólo en el caso del Perlane se desarrolla una cápsula fibrosa alrededor del implante.

Tanto las variaciones en el espesor de los implantes, como el grosor del tejido celular subcutáneo y la presencia o no de cápsula, son variables que determinan el efecto volumen de un material de relleno. En la variación del espesor del implante intervienen dos circunstancias, por un lado el grado de degradación del material por las células de la inflamación y por otro la formación de tejido en su interior; la suma de ambos procesos determina el aumento o disminución de volumen del producto implantado. En nuestro

estudio hemos podido constatar que de todas estas variables son estas modificaciones de volumen del propio material las que afectan de forma más significativa en el volumen de relleno final alcanzado, influyendo en mucho menor grado el grosor del tejido subcutáneo y la presencia de cápsula alrededor del implante (Tabla 4.3).

Tabla 4.3.- Modificación del efecto volumen en función de las variables espesor del implante, grosor del tejido celular subcutáneo y cápsula en los productos de origen orgánico a los 8 meses de su implantación.

PRODUCTO	ESPESOR	SUBCUTÁNEO	CAPSULA
Agarosa	↓ (1600μm)*	↓ (51μm)	-
Colágeno	↓ (550μm)	↓ (20μm)	-
Grasa	↓ (2400μm)	↑ (109μm)	-
Perlane	↑ (1200μm)	↓ (26μm)	↑ (10μm)

* entre paréntesis valor en micras de las medianas obtenidas de las diferentes variables

IV.4.2.1.- MATERIALES DE ORIGEN SINTÉTICO:

En el grupo de los materiales de origen sintético hemos observado que existen tres materiales con un *recuento celular* dentro del implante muy superior al resto (Aquamid, Artecoll y silicona), mientras que en el caso del Bio-Alcamid y Gore-Tex se observa la presencia de un infiltrado inflamatorio de menor cuantía. Así, al cabo de ocho meses, la celularidad es mayor en los implantes de silicona [122 (84-153)] y de Artecoll [122 (102-191)], seguido por los implantes de Aquamid [116 (86-127)]. El Bio-Alcamid y el Gore-Tex tienen valores muy por debajo de los de los materiales previamente señalados en este mismo período [18 (12-44) y 16 (8-32) respectivamente]. Cabe destacar igualmente que en todos los productos existe una tendencia decreciente del recuento celular, excepto en el Aquamid y en la silicona en los que se aprecia un aumento progresivo del infiltrado inflamatorio (Fig.4.61).

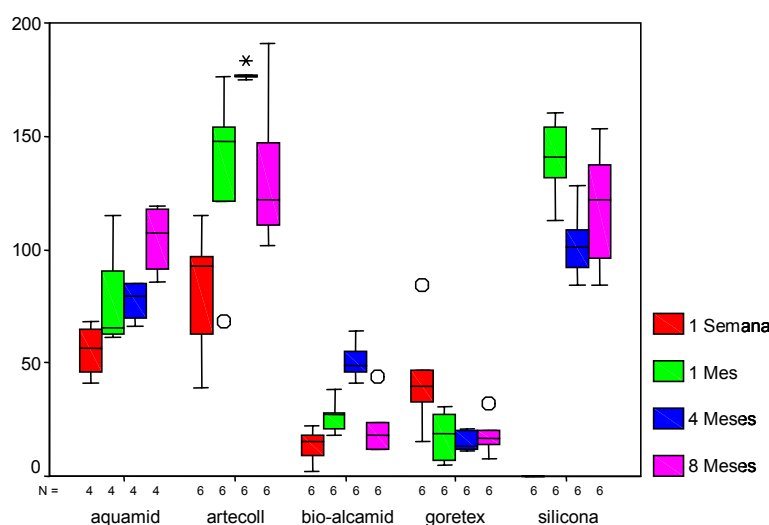


Fig.4.61.- Evolución de la densidad del infiltrado celular inflamatorio en el interior de los implantes de origen sintético a lo largo del tiempo.

En el análisis por *estirpes celulares* se aprecia que, en la primera supervivencia, existen dos materiales que parecen inducir una reacción inflamatoria aguda más marcada, el Aquamid y el Gore-Tex, como muestra la presencia del infiltrado celular de tipo neutrófilo. Esta reacción parece de mayor intensidad en el Gore-Tex, probablemente debido a la realización del bolsillo subcutáneo necesario para su implantación; sin embargo en el Aquamid la reacción aguda se prolonga más en el tiempo, hasta las cuatro semanas, desapareciendo completamente a los cuatro meses (Fig.4.62 y 4.63). Se observa que en la mayor parte de los productos y supervivencias de este grupo existe un claro predominio del infiltrado macrófago con respecto al resto de estirpes celulares, con tendencia a aumentar en el tiempo. En el caso del Gore-Tex sin embargo, el predominio de macrófagos es evidente sólo en la primera semana ya que, a partir de las cuatro semanas, existe una presencia constante de células gigantes que aumenta proporcionalmente de valor al disminuir el recuento de histiocitos/macrófagos; al cabo de ocho meses los recuentos de ambos tipos celulares son similares. También se aprecia que, en los períodos evaluados, los productos de origen sintético presentan un progresivo aumento del infiltrado de tipo fibroblástico al pasar el tiempo, más marcado en el caso del Aquamid (con un aumento importante entre la tercera y cuarta

supervivencias), el Artecoll y la silicona. La presencia de células gigantes, indicador de una cronificación de la respuesta inflamatoria, se observa en el interior de los implantes de Aquamid, silicona, Gore-Tex y Artecoll. Su aparición se evidencia a partir de las cuatro semanas y en un número similar en todos ellos; sin embargo en el caso del Artecoll y del Aquamid se produce un aumento de su número hasta los ocho meses, mientras que en el Gore-Tex permanece prácticamente constante. En este último período es el Artecoll el que presenta un recuento mayor de células gigantes. El Bio-Alcamid presenta un recuento muy superior de macrófagos con respecto al de fibroblastos, manteniéndose prácticamente constante en todos los períodos evaluados (Figs. 4.62 a 4.65).

La existencia de vasos neoformados es una de las características propias de la inflamación crónica, como demuestra la presencia de vascularización en el interior de los implantes de Aquamid, Artecoll y Silicona, los tres productos que desarrollan una reacción de tipo crónico más evidente.

Los materiales de origen sintético inducen disminución muy importante e incluso atrofia del tejido celular subcutáneo a los ocho meses de la implantación. La única excepción en este sentido es el Gore-Tex en el que los valores de esta variable aparecen ligeramente aumentados al cabo de ocho meses. En los implantes de Artecoll y Bio-Alcamid existe atrofia de esta estructura cutánea en el último período analizado, mientras que se produce un adelgazamiento muy importante en el caso del Aquamid [13 (12-17)] y la Silicona [20 (8-34)].

La variación en el *espesor del producto implantado* entre la primera semana y los ocho meses es escasa en los materiales de origen sintético. Existe una tendencia a la disminución en el caso del Aquamid, Bio-Alcamid y Silicona mientras que los implantes de Gore-Tex mantienen un espesor constante. Por último, los implantes de Artecoll aumentan de espesor entre el primer y último período estudiados [primera semana 0,5 (0,4-0,6); ocho meses 1,3 (0,8-2,1)]. La presencia de cápsula se puede observar con claridad en la última supervivencia alrededor de los implantes de Bio-Alcamid [25 (22-32)], Artecoll [21 (16-25)] y Gore-Tex [18 (16-25)]. En todos los productos de este grupo se puede evidenciar la presencia de cápsula al cabo de cuatro meses, sin

embargo, el importante grado de fibrosis que inducen los implantes de Aquamid y Silicona hace que no se pueda delimitar en estos dos materiales al cabo de ocho meses.

Consideramos que, de acuerdo con las observaciones realizadas y los datos recopilados, en lo que respecta al efecto de volumen, únicamente en el caso del Gore-Tex podría considerarse un aumento del efecto volumen a expensas de un ligero aumento en el espesor del tejido celular subcutáneo y de la presencia de una cápsula de espesor fino alrededor de los implantes (Tabla 4.5).

Tabla 4.4.- Modificación del efecto volumen en función de las variables espesor del implante, grosor del tejido celular subcutáneo y cápsula en los productos de origen sintético a los de 8 meses de su implantación.

PRODUCTO	IMPLANTE	SUBCUTÁNEO	CAPSULA
Aquamid	↓ (1400μm)*	↓ (13μm)	-
Bio-Alcamid	↓ (1500μm)	-	+ (25μm)
Artecoll	↑ (1300μm)	-	+ (21μm)
Gore-Tex	↑↓ (420μm)	↑ (82μm)	+ (18μm)
Silicona	↓ (1400μm)	↓ (13μm)	-

* entre paréntesis valor en micras de las medianas obtenidas de las diferentes variables

IV.4.3.- ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE MATERIALES DE ORIGEN ORGÁNICO Y SINTÉTICO:

A la luz de los datos derivados del **análisis macroscópico** (inspección y palpación), hemos observado que no existen grandes diferencias entre el grupo de materiales orgánicos y sintéticos en lo que atañe a la persistencia del producto y sus variaciones de volumen a lo largo del tiempo (Tabla 4.2). Sin embargo, hemos observado que los cambios de la textura se dan con mayor frecuencia entre los productos de origen sintético.

Tabla 4.2. Estado de los habones de implante de los distintos productos a los 8 meses tras la implantación.

	Producto	Identificable ¹	Volumen ²	Endurecimiento	Observaciones
Orgánicos	Agarosa	++	↓↓	no	
	Colágeno	+	↓↓↓	sí	
	Grasa	+++	≈	no	
	Perlane	+++	↓	no	
	Hyaluderm	-	↓↓↓	no	Reabsorción en 48 h
Inorgánicos	Aquamid	+++	↓	sí	
	Bio-Alcamid	++	↓↓	no	
	Artecoll	-	↓↓↓	sí	Aspecto perlado
	Gore-Tex	+	≈	no	
	Silicona	++	↓	sí	Endurecimiento de la piel

¹ -: no identificable; +: identificable con dificultad; ++: identificable; +++: fácilmente identificable.

² ≈: sin variaciones aparentes; ↓: disminución leve; ↓↓: disminución moderada; ↓↓↓: disminución muy importante

Del **análisis microscópico** de ambos grupos podemos deducir que, en términos generales, el grado de reactividad tisular es mayor en el grupo de materiales de origen sintético en todos los períodos evaluados. La reacción inflamatoria crónica observada en estos últimos productos es suficientemente intensa en la última supervivencia como para intuir que, al menos en la mayoría de ellos, podría prolongarse en el tiempo, dando lugar a modificaciones en el comportamiento de los implantes con el riesgo asociado de aparición de complicaciones. La invasión de los implantes por tejido neoformado y el grado de fibrosis alcanzado, como indica la presencia de fibroblastos en el interior de los implantes, es más frecuente en el caso de los materiales de origen sintético; este hecho podría explicar en parte los cambios de textura observados por la simple palpación. Aunque hemos podido evidenciar variaciones en el espesor del tejido celular subcutáneo, con los datos aportados por el análisis cualitativo de los productos empleados, no podemos asegurar en qué grado influye esta circunstancia en las variaciones de volumen de los habones apreciadas en la inspección, ya que las variaciones del espesor del producto son tan predominantes que el espesor del tejido subcutáneo pierde protagonismo (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Resumen del Análisis Cualitativo Microscópico a los 8 Meses.

		Celularidad ¹	Tipos Celulares ²			Cápsula	Subcutáneo ³	Vasos ⁴
			Mac	Fib	CG			
ORGÁNICOS	Agarosa	<i>Intensa</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	↓	<i>Sí</i>
	Colágeno	<i>Moderada</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	↓↓	<i>Sí</i>
	Grasa	<i>Ausente</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	↑	<i>No</i>
	Perlano	<i>Leve</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	<i>Sí</i>	↓↓	<i>No</i>
SINTÉTICOS	Aquamid	<i>Intensa</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>No</i>	↓↓	<i>Sí</i>
	Artecoll	<i>Intensa</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	atrofia	<i>Sí</i>
	Bio-Alcamid	<i>Leve</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	<i>Sí</i>	atrofia	<i>No</i>
	Gore-Tex	<i>Leve</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	↓↑	<i>No</i>
	Silicona	<i>Intensa</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>Sí</i>	<i>No</i>	↓↓	<i>Sí</i>

1: Intensidad del Infiltrado Celular Inflamatorio dentro del Implante (células por campo).

2: Tipos Celulares en el Infiltrado: Mac (Macrófagos), Fib (Fibroblastos), CG (Células Gigantes).

3: Subcutáneo con respecto a Control-Placebo: ↓↓ (muy disminuido); ↓ (disminuido); ↓↑ (± igual); ↑ (aumentado).

4: Presencia de Capilares en el interior del Implante.

El **análisis cuantitativo** nos permite ver que, en lo que respecta al recuento total de células dentro de los implantes, la celularidad es mayor en los materiales de relleno de origen sintético al cabo de ocho meses de la implantación, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Cabe reseñar que, en la primera supervivencia, los materiales de origen orgánico tienen una densidad de células inflamatorias en el interior del los implantes mayor que los de origen sintético, si bien las diferencias observadas en este período no alcanzan valores considerados estadísticamente significativos ($p > 0,05$) (Tablas 4.4 y 4.5).

Tabla 4.4. Estadísticos de grupo para la variable células de los materiales orgánicos e inorgánicos

		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
CEL1	orgánico	23	48,30	40,07	8,36
	sintético	29	38,83	34,70	6,44
CEL2	orgánico	24	69,79	50,74	10,36
	sintético	28	79,61	58,37	11,03
CEL3	orgánico	24	57,50	49,29	10,06
	sintético	29	84,45	57,27	10,63
CEL4	orgánico	24	52,88	43,66	8,91
	sintético	30	80,20	54,45	9,94

Tabla 4.5. Estadísticos de contraste para la variable células de los materiales orgánicos e inorgánicos

	CEL1	CEL2	CEL3	CEL4
U de Mann-Whitney	283	307	224	248
W de Wilcoxon	718	607	524	548
Z	-0,932	-0,532	-2,216	-1,950
Sig. Asintót. (bilateral)	0,351	0,594	0,027	0,041

El estudio por *estirpes celulares* muestra que los macrófagos son la estirpe celular que se encuentra en mayor cantidad en todos los productos y a lo largo de todas las supervivencias estudiadas. Al cabo de 8 meses el recuento de células de esta estirpe celular es cuantitativamente superior en el interior de los implantes de origen sintético. Se puede considerar que, en términos generales, el número de fibroblastos aumenta con el tiempo en todos los materiales de origen sintético así como en la Agarosa. Este hecho se correlaciona con la tendencia que tiene cada material a ser invadido por tejido fibroso neoformado que, por lo tanto, parece de intensidad superior en el grupo de los productos sintéticos. El recuento de células gigantes, indicador de la evolución de la respuesta tisular hacia un proceso inflamatorio crónico, es mayor en el grupo de los materiales de origen sintético (Figs. 4.62 a 4.65).

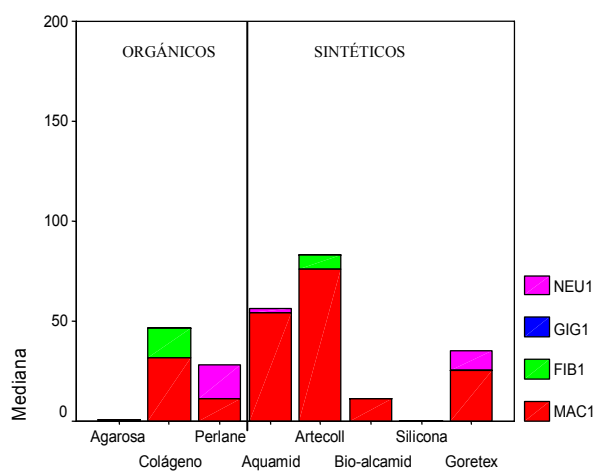


Fig.4.62.- Distribución por estirpes celulares de los materiales orgánicos e inorgánicos en la primera semana.

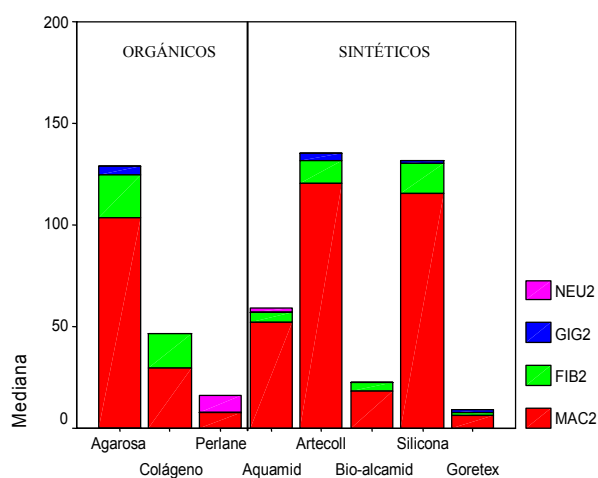


Fig.4.63.- Distribución por estirpes celulares de los materiales orgánicos e inorgánicos al cabo de cuatro semanas.

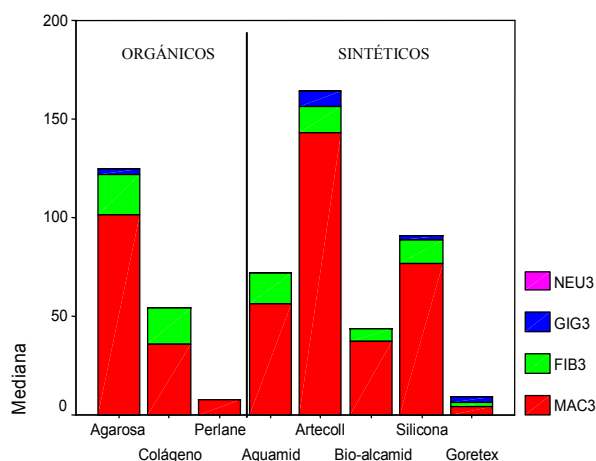


Fig.4.64.- Distribución por estirpes celulares de los materiales orgánicos e inorgánicos a los cuatro meses de la implantación.

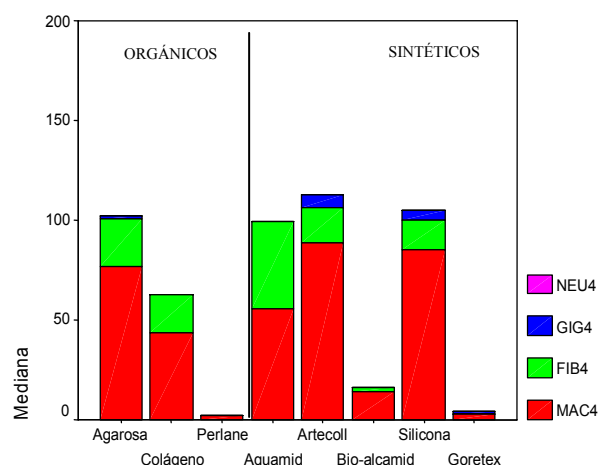


Fig.4.65.- Distribución por estirpes celulares de los materiales orgánicos e inorgánicos al cabo de ocho meses.

La presencia de *vascularización* parece asociada a la reacción fibrosa en los implantes. Existe neoformación de capilares en ambos grupos, orgánico (Agarosa y Colágeno) e inorgánico (Aquamid, Artecoll y Silicona) pero, cuando existe, es cuantitativamente mayor en este último.

El análisis comparativo entre grupos para la variable de, muestra que los materiales de origen sintético *grosor de tejido celular subcutáneo* inducen una disminución de esta capa cutánea mucho más notoria que los de naturaleza orgánica. Esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0,05$) a partir de las cuatro semanas, y se incrementa de forma progresiva hasta los ocho meses (Tablas 4.6, 4.7 y 4.8).

Tabla 4.6. Tabla de Datos para la variable tejido subcutáneo de todos los materiales estudiados.

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mín.	Máx.
						Límite inf.	Límite sup.		
SUB1	agarosa	6	50,022	9,090	3,711	40,482	59,561	38,1	58,4
	aquamid	5	59,540	6,399	2,862	51,594	67,486	48,4	63,9
	artecoll	6	24,662	2,550	1,041	21,985	27,338	20,2	26,8
	bio- alcamid	6	49,088	6,615	2,701	42,146	56,030	42,2	61,4
	colágeno	6	49,912	9,854	4,023	39,571	60,253	30,3	57,1
	goretex	6	174,575	80,334	32,796	90,270	258,880	91,3	293
	perlan	5	46,174	6,252	2,796	38,411	53,937	40,3	54,1
	silicona	6	65,465	10,121	4,132	54,843	76,087	49,9	76,4
	Total	46	65,455	52,110	7,683	49,980	80,929	20,2	293
SUB2	agarosa	6	51,980	11,784	4,811	39,613	64,347	40,6	70,9
	aquamid	4	12,975	,936	,468	11,486	14,464	11,9	14,2
	artecoll	6	22,223	2,218	,906	19,896	24,551	19,1	25,2
	bio- alcamid	6	49,470	9,957	4,065	39,021	59,919	38,2	62,1
	colágeno	6	43,075	6,365	2,598	36,395	49,755	34,8	52,0
	goretex	6	51,505	9,539	3,894	41,495	61,515	42,8	69,0
	perlan	6	25,608	1,487	,607	24,048	27,169	23,8	27,2
	silicona	6	17,103	10,672	4,357	5,903	28,303	,0	32,2
	Total	46	35,167	16,890	2,490	30,152	40,183	,0	70,9
SUB3	agarosa	6	48,128	12,406	5,065	35,109	61,147	34,3	65,7
	aquamid	5	13,822	,529	,237	13,165	14,479	13,1	14,5
	artecoll	6	,000	,000	,000	,000	,000	,0	,0
	bio- alcamid	6	30,430	6,992	2,855	23,092	37,768	22,4	38,9
	colágeno	6	29,155	2,959	1,208	26,050	32,260	24,1	33,3
	goretex	6	15,377	1,273	,520	14,040	16,713	13,5	17,3
	perlan	6	36,630	2,726	1,113	33,769	39,491	32,2	39,5
	silicona	6	16,818	6,660	2,719	9,829	23,807	10,7	28,6
	Total	47	24,007	15,403	2,247	19,485	28,530	,0	65,7
SUB4	agarosa	6	51,635	6,472	2,642	44,843	58,427	41,3	60,1
	aquamid	6	14,043	2,354	,961	11,573	16,513	12,1	17,3
	artecoll	6	,000	,000	,000	,000	,000	,0	,0
	bio- alcamid	6	,000	,000	,000	,000	,000	,0	,0
	colágeno	6	20,403	3,000	1,225	17,255	23,552	15,8	24,9
	goretex	6	78,955	28,229	11,524	49,331	108,579	46,8	111
	perlan	6	26,133	1,962	,801	24,074	28,192	23,6	28,4
	silicona	6	20,913	10,924	4,460	9,449	32,377	8,1	34,8
	Total	48	26,510	27,270	3,936	18,592	34,429	,0	111

Tabla 4.7. Estadísticos de Grupo para la variable Tejido Subcutáneo de los Materiales Orgánicos e Inorgánicos

		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
SUB1	orgánico	23	50,88	8,47	1,76
	sintético	29	75,18	63,71	11,83
SUB2	orgánico	24	46,15	16,37	3,34
	sintético	28	31,91	18,27	3,45
SUB3	orgánico	24	50,42	24,44	4,99
	sintético	29	15,34	10,82	2,00
SUB4	orgánico	24	51,74	36,17	7,38
	sintético	30	22,78	32,29	5,89

Tabla 4.8. Estadísticos de Contraste para la variable Células de los Materiales Orgánicos e Inorgánicos

	SUB1	SUB2	SUB3	SUB4
U de Mann-Whitney	261	180	32	136
W de Wilcoxon	537	586	467	601
Z	-1,336	-2,854	-5,650	-3,921
Sig. Asintót. (bilateral)	0,182	0,004	0,000	0,000

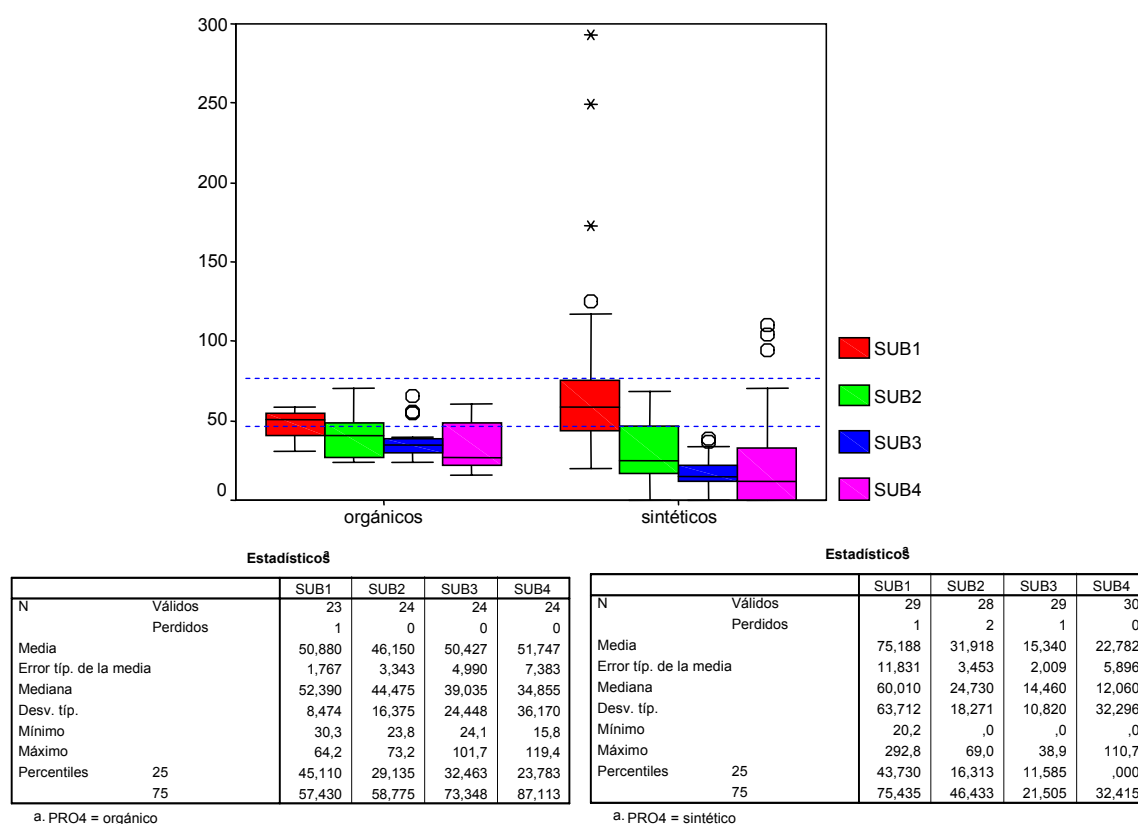


Fig.4.66.- Evolución comparativa del grosor del tejido celular subcutáneo en los materiales de origen orgánico y sintético en las diferentes supervivencias. Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max). Las líneas de puntos superior e inferior representan los valores máximo y mínimo para esta variable en los grupos control y placebo.

El estudio de las *variaciones de volumen* de los implantes muestra que ambos grupos presentan un comportamiento muy similar en lo que se refiere a la variable longitud de los implantes, medida en la primera semana y al cabo de ocho meses (Fig.4.67 y 4.69). A pesar de que la tendencia general en ambos grupos es a la disminución en el espesor del habón subcutáneo del producto, el estudio conjunto de todos los materiales muestra que en los productos de origen sintético existe un aumento relativo del espesor. Este fenómeno es debido probablemente al importante aumento que experimentan los implantes de Artecoll, desviando en este sentido la tendencia global del grupo (Fig.4.68 y 4.70).

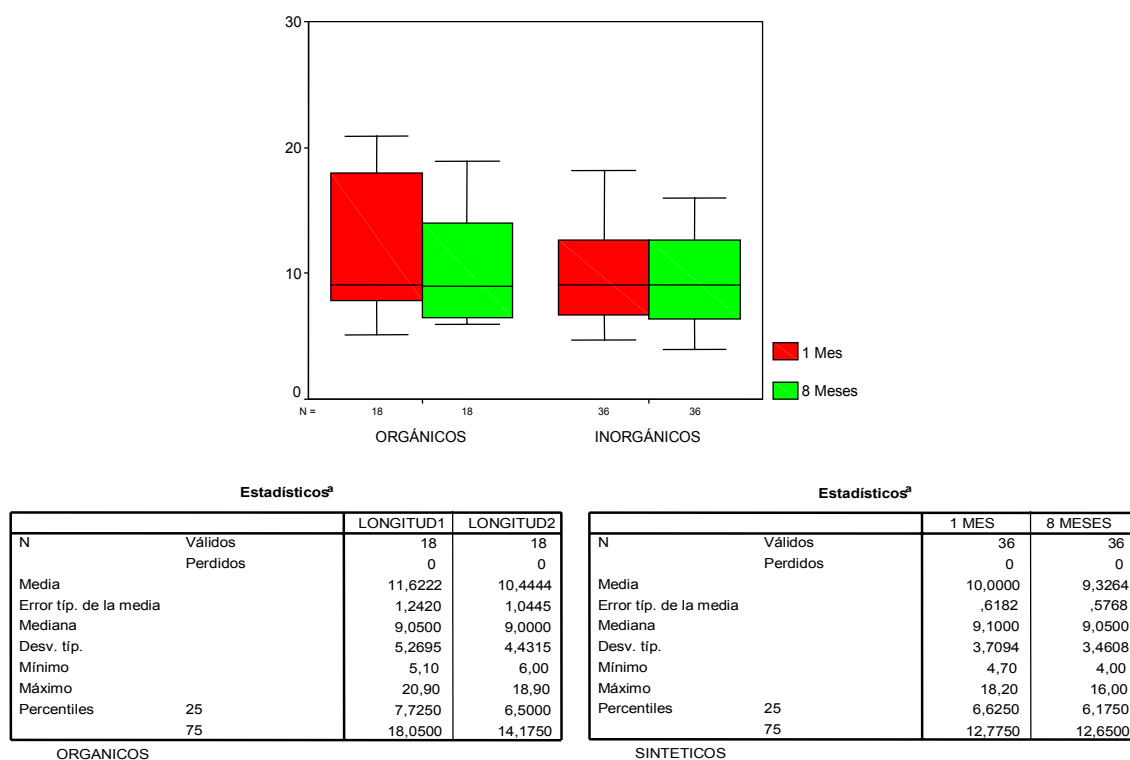


Fig.4.67.- Evolución Comparativa de la Longitud de los Implantes de Origen Orgánico y Sintético en la Primera y Última Supervivencias. Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

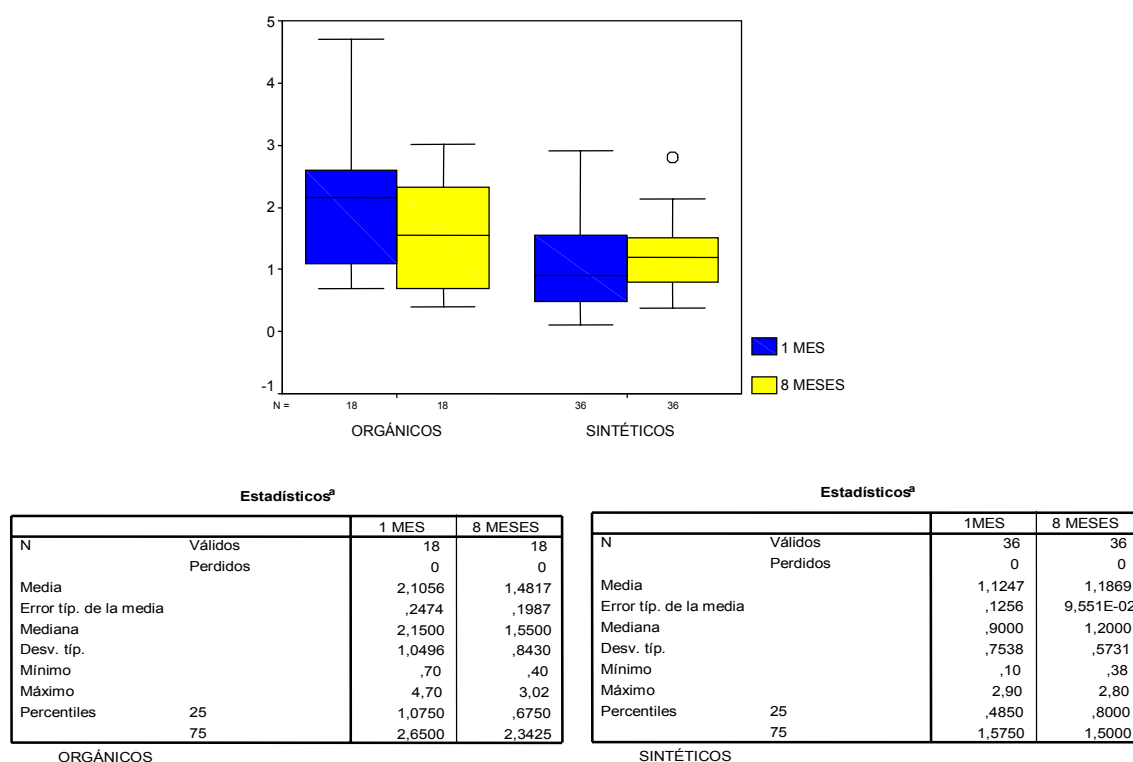


Fig.4.68.- Evolución comparativa del espesor y longitud de los implantes de origen orgánico y sintético en la primera y última supervivencias. Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

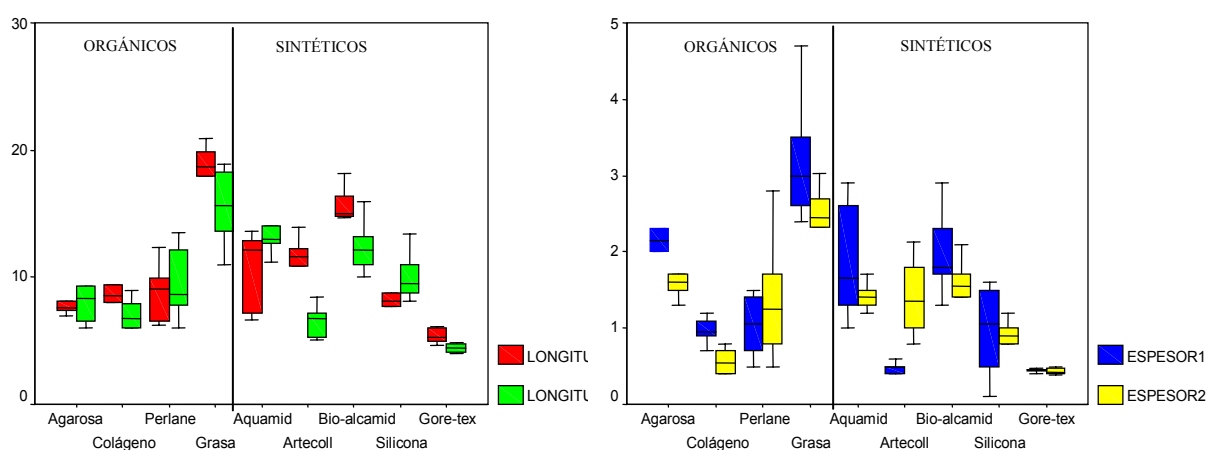


Fig.4.69.- Longitud de los implantes de origen orgánico y sintético en la primera y última supervivencias. Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Fig.4.70.- Espesor de los implantes de origen orgánico y sintético en la primera y última supervivencias. Los resultados se expresan en forma de medianas (min - max).

Tabla 4.8.- Resumen del análisis cuantitativo a los 8 meses.

		Tipos Celulares ²							
		Celularidad ¹	Mac	Fib	CG	Subcutáneo ³	Vasos ⁴		
ORGÁNICOS	<i>Agarosa</i>	••••	+++	++	+	↓↑	+		
	<i>Colágeno</i>	•••	++	++	-	↓↓	+		
	<i>Grasa</i>	-	-	-	-	↑	-		
	<i>Perlane</i>	•	+	-	-	↓↓	-		
SINTÉTICOS	<i>Aquamid</i>	••••	++	+++	-	↓↓	++		
	<i>Artecoll</i>	•••••	+++	++	++	atrofia	+		
	<i>Bio-Alcamid</i>	•	+	+	-	atrofia	-		
	<i>Gore-Tex</i>	•	+	+	+	↓↑	-		
	<i>Silicona</i>	••••	+++	++	++	↓↓	++		

1: Densidad celular dentro del implante (células por campo): - (0); • (0-30); •• (30-60); ••• (60-90); •••• (90-120); ••••• (>120)

2: Tipos Celulares en el Infiltrado (células por campo):

Mac (Macrófagos): - (0); + (0-30); ++ (30-60); +++ (60-90); ++++ (>90)

Fib (Fibroblastos): - (0); + (0-10); ++ (10-40); +++ (>40)

CG (Células Gigantes): - (0); + (<5); ++ (≥5)

3: Subcutáneo con respecto a control-placebo: ↓↓ (muy disminuido); ↓ (disminuido); ↓↑ (± igual); ↑ (aumentado)

4: Vasos (capilares por campo): - (0); + (0-2); ++ (2-3); +++ (>3)

IV.4.4.- INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LOS RESULTADOS:

El estudio experimental de la respuesta de los tejidos ante la exposición a los materiales de relleno empleados en nuestro trabajo, nos ha permitido reunir una serie de datos que pueden ayudar a determinar de forma aproximada el comportamiento clínico de estos productos. Igualmente el conocimiento de las reacciones tisulares frente a los mismos, nos permite configurar unas directrices orientativas acerca de las posibles complicaciones, indicaciones y manejo de este tipo de sustancias.

El *recuento celular total* nos indica qué productos inducen una reacción más intensa en el organismo. En este sentido, la Agarosa, el Aquamid, el Artecoll y la Silicona son los materiales que, en nuestro trabajo, provocan mayor respuesta tisular inflamatoria. En el extremo opuesto la Grasa, el Perlane, el

Bio-Alcamid y el Gore-Tex son materiales con una menor densidad de células inflamatorias en su interior. Sería por tanto de esperar que las complicaciones asociadas a su uso fuesen más frecuentes en el primer grupo y más raras en el segundo.

Las estirpes celulares implicadas en la respuesta tisular nos indican, entre otros, el tipo de respuesta inflamatoria, aguda o crónica, pudiendo ser de utilidad clínica en lo que se refiere a la posibilidad de predecir el tipo de complicaciones asociadas a cada material. En los productos en los que la respuesta inicial se englobe en el contexto de una reacción inflamatoria aguda, representada por la presencia de polimorfonucleares neutrófilos, sería de esperar una mayor incidencia clínica de signos y síntomas propios de la inflamación aguda como el enrojecimiento, el calor, el dolor...y de duración mayor cuanto más prolongada sea la presencia de esta respuesta tisular. El Perlane, el Aquamid y el Gore-Tex serían los materiales en los que se podría esperar una menor tolerancia y mayor incidencia de complicaciones en los primeros días o semanas tras su implantación. Igualmente la presencia de células gigantes y vasos, consideradas los rasgos más significativos de una respuesta tisular inflamatoria de tipo crónico, orientarían hacia un riesgo más elevado de complicaciones a largo plazo; la actividad tisular persistente en el tiempo a consecuencia de la presencia de una sustancia considerada como un cuerpo extraño, se podría llegar a considerar como una fase inicial subclínica o latente que podría finalmente evolucionar hacia la aparición de diversos efectos adversos, siendo la aparición de granulomas el más frecuentemente mencionado en la literatura. El Artecoll, la Silicona, el Gore-Tex y la Agarosa, serían en este sentido los materiales de relleno más proclives a desarrollar complicaciones a largo plazo. Conviene señalar sin embargo que, en el caso de la Agarosa, la tendencia es hacia la disminución en el tiempo de la presencia de células gigantes en el interior de los implantes, indicador de que la respuesta de tipo crónico parece ser autolimitada en el tiempo.

Los cambios que sufre el producto una vez implantado en el organismo deben de ser tenidos igualmente en cuenta por la repercusión que este hecho puede tener desde el punto de vista clínico. La invasión de los implantes por células inflamatorias de estirpe fibroblástica se asocia a la formación de

colágeno en el interior del material. La diferente densidad de estas fibras de colágeno hace que el grado de fibrosis sea distinta entre los distintos productos y que en un mismo material varíe a lo largo del tiempo. La formación de tejido fibroso supone una modificación de las características iniciales de los productos con cambios asociados en su textura y comportamiento, haciendo que sus indicaciones puedan ser diferentes.

El endurecimiento de un material desaconsejaría su aplicación en zonas superficiales (labios, glabella, surcos nasogenianos...), donde los cambios de textura serían más evidentes, siendo más adecuado su uso para el aumento de tejidos profundos o partes duras (malar, mentón, mandíbula...); la Agarosa, el Aquamid, el Artecoll o la Silicona serían los productos más indicados para estas aplicaciones.

Una de las características que se consideran deseables en un material de relleno es la posibilidad de extracción si fuese necesario. Esta posibilidad se ve dificultada si existe tejido en el interior de los implantes, considerándose además que este fenómeno se asocia a una mayor adherencia a los tejidos circundantes. En este sentido el grado de invasión por tejido del huésped sería una característica a tener en cuenta a la hora de valorar la idoneidad de estos productos para el relleno de defectos de volumen. Para poder extraer con facilidad un material de relleno deberían de darse al menos tres circunstancias: que el material no sea colonizado por tejido huésped, que se inyecte un volumen suficientemente grande y que el implante se localice en un punto de fácil identificación. En nuestro trabajo existen tres productos que muestran una menor infiltración tisular que son el Bio-Alcamid, el Perlane y el Gore-Tex. Dadas las características de los dos primeros, comercializados en forma de gel, serían fácilmente extraídos siempre y cuando se cumplan las condiciones señaladas. En el caso de Gore-Tex creemos que es un material que podría ser extraído con cierta facilidad incluso bastante tiempo después de ser introducido en los tejidos. Los implantes de Gore-Tex tiene escaso crecimiento de tejido en su interior. Las implicaciones clínicas de este hallazgo son importantes, ya que muchos cirujanos creen que el Gore-Tex es un material difícil de explantar debido a un gran crecimiento de tejido fibroso en su interior e integración del mismo con los tejidos circundantes. Una de las principales desventajas de este

producto sería precisamente la falta de estabilidad inmediata del mismo que se ve en otros materiales aloplásticos de mayor porosidad.

Las variaciones en el espesor del tejido celular subcutáneo podrían tener repercusión clínica a la hora de emplear estas sustancias como materiales de relleno. Por un lado la disminución de su grosor, y en mayor medida la atrofia, implicaría que los cambios que sufriesen los implantes serían más fácilmente apreciables, con la repercusión desde el punto de vista estético que este hecho conllevaría. Los cambios de volumen, la induración, la aparición de granulomas o la transparencia del material serían más evidentes si las capas cutáneas que recubren los implantes se encuentran adelgazadas. Los implantes de Colágeno, Perlane, Aquamid, Artecoll, Bio-Alcamid y Silicona son los materiales que, si se implantan muy superficialmente, serían más proclives a mostrar este tipo de efectos adversos si se produjesen. Si se tiene en cuenta además que el Aquamid, el Artecoll y la Silicona son materiales que, por su naturaleza, tienden a desarrollar fibrosis, consideramos que su aplicación debería de reservarse para el aumento de tejidos profundos.

V. DISCUSIÓN

La indicación de los diferentes productos de relleno suele estar basada, en la mayoría de los casos, en la experiencia clínica derivada de una utilización empírica de los mismos. No suele existir, como sería de desear, un estudio previo de la capacidad y el tipo de respuesta tisular generada por los diferentes tipos de relleno, que justificaría la utilización en cada caso y orientaría respecto a la posible duración de los mismos.

En este trabajo hemos realizado un estudio comparativo de las reacciones histológicas a diversos materiales de relleno. La mayor parte de las sustancias analizadas (poliacrilamidas, polimetilmetacrilato, derivados del ácido hialurónico y del politerafluoroetileno) son ampliamente utilizadas en la actualidad o han ocupado un lugar destacado en la historia de la evolución de este tipo de sustancias (silicona, colágeno). Además se ha estudiado la reacción de los tejidos frente a la agarosa, un producto biocompatible no empleado previamente como material para el aumento de partes blandas, que dadas sus características creemos puede ser empleado como tal (Fernández-Cossío y col., 2006).

La biocompatibilidad es la característica más importante que debe de cumplir un producto para poder ser utilizado como material de relleno (Jansen y col., 1994), pero el concepto de biocompatibilidad ha variado a lo largo de los años con el estudio y mejor conocimiento de este tipo de sustancias. Clásicamente, se definió como la ausencia o casi ausencia de respuesta tisular frente a un material implantado (Butler y col., 1997), considerando que el producto ideal debería de ser inerte. Sin embargo existen autores que actualmente consideran que esta definición de material biocompatible es poco útil ya que todos los materiales de relleno, como sustancias extrañas al organismo, inducen al menos algún tipo de reactividad tisular originada por la respuesta inflamatoria secundaria al traumatismo quirúrgico que se produce necesariamente con la implantación del mismo (Spector y col., 1989; Coleman y col., 1974). En nuestro trabajo todos los productos indujeron algún tipo de reactividad tisular, por lo que no podemos considerar a ninguno de ellos como un material inerte. Por el contrario, en algunos de los materiales estudiados la respuesta tisular inducida fue tan marcada que, al cabo de ocho meses, la cantidad de material evidenciada era significativamente menor a la inicialmente

implantada, siendo sustituido en su mayor parte por tejido de tipo fibroso. La integración de determinados productos en el tejido en el que se introducen, secundaria a la respuesta tisular frente a los mismos, es valorada por algunos autores como una característica beneficiosa de estas sustancias (Elson, 1995). En otros trabajos incluso se considera adecuada la sustitución total de un producto por tejido del organismo en el que se implanta (Alster y col., 2000). Por todo lo anterior, dentro del concepto moderno de biocompatibilidad, se acepta que un material de relleno no tiene por que ser necesariamente inerte, pudiendo ser, como sucede más frecuentemente, bioactivo (Jeyanthi y col., 1990). De acuerdo con este concepto podemos decir que todos los productos analizados en este trabajo, muestran diversos grados de bioactividad.

V.1.- MATERIALES DE ORIGEN ORGÁNICO

V.1.1.- AGAROSA

El auge en el uso de materiales de relleno empleados en técnicas de rejuvenecimiento facial ha hecho que en los últimos años hayan surgido gran cantidad de productos nuevos para su uso en el aumento de volumen de tejidos. Sin embargo, y a pesar de estar constituidos todos ellos por sustancias biocompatibles, los efectos secundarios observados con algunos ha hecho que en ocasiones su uso no sea autorizado (Lombardi y col., 2004), o lo sea pero limitado a ciertas indicaciones (Christensen y col., 2003; De Cassia-Novaes y col., 2003). Creemos que esta circunstancia que se da con los materiales de relleno es, en parte, debida a la falta de conocimiento de la respuesta tisular frente a estos productos antes de ser comercializados. Si se realizase una búsqueda más exhaustiva en esta línea probablemente se encontrarían diversas sustancias que, aunque actualmente se emplean en medicina con otros fines, cumplen con el criterio de biocompatibilidad, requisito imprescindible para ser introducidos en los tejidos, pudiendo por tanto considerarse como potenciales materiales de relleno. Consideramos que previa a la comercialización de cualquiera de estas sustancias, una forma rápida y

fiable de descartar o continuar el estudio de su uso potencial en el aumento de volumen, de la misma manera que se hace con los productos de uso farmacológico, consiste en el análisis experimental de la respuesta tisular a los mismos. En este sentido hemos incluido en nuestro trabajo el estudio de la agarosa, un producto de biocompatibilidad demostrada, sobre el que no existen trabajos publicados hasta la fecha que considerasen su aplicación como material de relleno para el aumento de partes blandas.

La agarosa es un producto que no altera el crecimiento ni la viabilidad celular (Jiang y col., 2004), siendo empleado, entre otras aplicaciones, en técnicas de terapia génica (Jeyanthi y col., 1990). Las características físico-químicas de esta sustancia, con capacidad par formar geles de consistencia variable, hacen de la agarosa un producto potencialmente útil como material de relleno.

Desde el punto de vista histológico la agarosa se caracteriza por presentar una alta bioactividad. Al cabo de un mes observamos que el implante va siendo lentamente degradado por células macrofágicas a la vez que, el espacio inicialmente ocupado por el producto, es sustituido por tejido huésped de forma progresiva. La agarosa induce una reacción inflamatoria crónica demostrada por la presencia de células gigantes y la formación de capilares sanguíneos dentro del implante.

Al contrario de los que sucede con geles de características similares ampliamente empleados en clínica (Christensen y col., 2003), no hemos observado la formación de granulomas ni nódulos fibrosos. Asimismo, a lo largo de los ocho meses de evolución analizados en nuestro trabajo empleando la agarosa como implante subcutáneo, no hemos observado migración del producto ni datos histopatológicos de necrosis, calcificación, infección ni crecimiento tumoral en los tejidos expuestos al producto. Todos estos hallazgos indican que el gel de agarosa puede ser considerado como un potencial material de relleno.

V.1.2.- COLÁGENO

Aunque su uso ha disminuido significativamente en los últimos años, el colágeno ha ocupado un papel fundamental en la historia de los materiales de relleno siendo considerado, por su baja reactividad, como el producto de referencia a la hora de introducir nuevas sustancias para su uso en el aumento de partes blandas (Larrabee y col., 1993; Ersek, 1991).

Con respecto a la duración del implante, los primeros trabajos publicados en los que se inyectó colágeno bovino bajo la piel de la región frontal en ratas, indicaban que los implantes duraban en torno a dos años (Knapp y col., 1977). Actualmente se sabe que los implantes de colágeno bovino inyectados en piel humana sólo permanecen durante unos 3 a 6 meses (Alster y col., 2000). Nosotros hemos observado la presencia de pequeñas cantidades de producto al cabo de ocho meses, en forma de masas finas de color blanco. Esta significativa pérdida de volumen es debida probablemente en parte a la degradación del mismo por macrófagos y en parte a la precipitación que sufre este material a temperatura corporal (Gross y col., 1958).

Desde el punto de vista histológico, hemos comprobado que el colágeno implantado induce una baja reactividad en los tejidos existiendo, desde la primera supervivencia, una progresiva infiltración por histiocitos y fibroblastos. Algunos autores han descrito, sin embargo, una primera fase de reacción inflamatoria alrededor del implante, con posterior colonización del mismo por células de tejido conectivo al cabo de 3 a 5 meses (Knapp y col., 1977; Lemperle y col., 2003). En otros trabajos no se evidencia infiltración celular o ésta es mínima (Hinderer y col., 1990). En cualquier caso no hemos constatado la sustitución del colágeno implantado por colágeno propio del tejido en el que se implantó como se expone en algunos estudios (Sclafani y col. 2001; Hinderer y col., 1990) y en contraposición con otros en los que se apunta la capacidad de este material de inducir la generación de colágeno nuevo (Knapp y col., 1977; Elson, 1988; Lemperle y col., 2003; Burke y col., 1983; Armstrong y col., 1984; McPherson y col., 1986). Tampoco hemos encontrado signos que indiquen la instauración de una reacción inflamatoria crónica en los tejidos en los que se implanta, como indicaría la presencia de células gigantes, dato este último apuntado por otros autores (Hinderer y col., 1990).

En lo que se refiere a la existencia de estudios en los que se realicen análisis cuantitativos de este material, hemos encontrado dos trabajos uno de Knapp publicado en 1977 y otro de McPherson publicado en 1986. En el primero de ellos, un estudio experimental en ratas comparando implantes subcutáneos de colágeno de rata, de conejo y humano, se analizaron dos variables, el peso de los implantes en miligramos y su variación en el tiempo, así como el tamaño de las fibras de colágeno medidas mediante microscopía electrónica. En lo que respecta al peso, Knapp observó una primera fase al cabo de 2 a 3 días en la que los distintos implantes experimentaban un aumento de peso, retornando a lo valores iniciales al cabo de 7 días. Posteriormente esta variable se mantuvo constante a lo largo del resto de los períodos evaluados (entre 2 semanas y 5 meses) (Knapp y col., 1977). Si bien no hemos analizado la variable peso y hemos empleado colágeno bovino, sí hemos comprobado en nuestro estudio que la longitud y el espesor de los implantes de colágeno analizados disminuye a lo largo de las supervivencias estudiadas. Teniendo en cuenta que no es de esperar que los materiales estudiados en ambos trabajos tengan densidades muy diferentes, podemos deducir que en el trabajo descrito por Knapp el colágeno es un material que mantiene sus propiedades de relleno a lo largo del tiempo, mientras que en nuestro trabajo muestra un carácter temporal en su efecto de relleno, como ha sido corroborado en numerosos estudios previos (Kligman y col., 1986; Klein, 1988; Fagien, 1998; Elson, 1998; Lemperle y col., 2003).

V.1.3.- GRASA

Coincidiendo con lo descrito en otros trabajos (Coleman, 1995), observamos en la primera semana la presencia de zonas de alta celularidad dentro de los implantes, probablemente asociados a zonas de necrosis grasa producidas por la isquemia celular consiguientes al transplante. Sin embargo no hemos podido demostrar la presencia de quistes de aceite, ni de células gigantes como señala Nguyen en un trabajo experimental en conejos (Nguyen y col., 1990).

Los implantes de grasa implantados por nosotros sufren una marcada disminución del infiltrado inflamatorio entre la primera y la segunda supervivencias y, en períodos posteriores están constituidos en su totalidad por tejido adiposo de aspecto normal, no apreciándose en ningún caso la sustitución del material por tejido fibroso hecho, este último, señalado por otros autores (Rieck y col., 2003; Nguyen y col., 1990).

No hemos encontrado en la bibliografía estudios en los que se determinen las variaciones ponderales de implantes de grasa. Rieck en 2003 realizó mediciones del tamaño celular de implantes de células adiposas en ratas observando, al cabo de tres meses, un aumento del tamaño de las mismas asociado a un incremento del contenido de vacuolas grasas intracitoplasmáticas. Estos hallazgos confirman la teoría de la viabilidad celular expuesta por Neel en 1950 (Rieck y col., 2003). Nuestro análisis de los implantes subcutáneos de grasa demuestra que los implantes tienden a aumentar de peso a partir de los cuatro meses, mientras que el número de células disminuye ligeramente entre la primera y la última supervivencia sin modificarse el componente de tejido conectivo, por lo que este incremento se debería a un aumento del peso por célula de acuerdo con lo expuesto por Rieck en su estudio.

V.1.4.- DERIVADOS DEL ACIDO HIALURONICO

Hemos observado que el ácido hialurónico Perlane, induce una mínima reactividad en los tejidos en los que se implanta. No hemos encontrado ningún trabajo hasta la fecha en el que se haya evaluado la respuesta histológica frente este mismo producto, siendo más frecuente en la bibliografía revisada el empleo del Restylane, que también es un ácido hialurónico estabilizado pero con menor concentración de moléculas por mililitro de producto. En este sentido los trabajos publicados hacen referencia a aspectos de tipo histopatológico, no encontrando ningún análisis histomorfométrico de la reacción tisular a este tipo de material.

En la evaluación del Perlane no hemos observado la presencia de células gigantes de cuerpo extraño, en contra de lo señalado por Lemperle, en un

estudio publicado en 2003 en una biopsia de piel humana en la que se implantó Restylane. No creemos que las diferencias encontradas se deban al tipo de producto, pues el material es el mismo con el añadido de que el Perlane se presenta en una concentración mayor, sino tal vez a la distinta respuesta que pueden inducir los tejidos de diferentes especies.

Existen discrepancias entre autores en lo que se refiere a la duración de este tipo de materiales. En la bibliografía consultada existen dos trabajos diferentes en los que se realizaban estudios histológicos de biopsias de piel humana en la que se había infiltrado Restylane: en uno de ellos, aplicado en el tejido subcutáneo de la piel del antebrazo, la duración del material no alcanzaba los nueve meses (Lemperle y col., 2003); en el segundo trabajo, consistente en el estudio de cinco biopsias obtenidas de cinco sujetos diferentes a los que se les inyectó el producto bajo la piel del antebrazo, en al menos cuatro de ellas la duración alcanzó las 52 semanas (Duranti y col., 1998). Si bien el producto empleado por nosotros presenta una mayor densidad que el Restylane, los implantes eran claramente identificables al cabo de ocho meses. Algunos autores consideran que un material de relleno introducido en forma de hebra bajo la piel de una arruga de expresión, en continuo movimiento, se reabsorbe más rápido que un depósito redondeado bajo la piel de un antebrazo o de una rata (Graivier y col., 2006). Tal vez sea esta la razón por la que en algunos estudios experimentales, materiales como el ácido hialurónico, que desde el punto de vista clínico son rellenos temporales, alcancen una duración mucho más prolongada.

En este producto hemos apreciado una menor intensidad en la tinción a lo largo de las sucesivas supervivencias evaluadas, hecho éste que asociamos a una posible disminución de densidad del mismo en el del tiempo. Este hallazgo se correlaciona con la mencionada degradación isovolumétrica que experimentan este tipo de sustancias y que ha sido descrita por otros autores, por la que los implantes de ácido hialurónico, a medida que son degradados, mantienen su volumen gracias a un aumento en su contenido de agua (Goa y col., 1994).

Con respecto al hialuronato sódico Hyaluderm, no hemos encontrado ninguna publicación en la que se haga referencia al análisis histológico de este tipo concreto de producto, si bien teniendo en cuenta los resultados obtenidos, sería de gran interés la realización de estudios de similares características para poder contrastar los hallazgos de nuestro estudio .

V.2.- MATERIALES DE ORIGEN SINTÉTICO

V.2.1.- DERIVADOS DE POLIACRILAMIDAS

Los geles de poliacrilamida han sido ampliamente utilizados en Europa del Este y China a lo largo de la última década, fundamentalmente en el aumento de mama, mediante inyección de grandes cantidades de producto en los tejidos.

En el caso del Aquamid, Christensen y col., apuntan en un estudio en el que analizan biopsias de pacientes tratadas con este producto, que el material inyectado se introduce entre las bandas de colágeno del tejido en el que se infiltra, ocupando el lugar de la matriz extracelular, lo que hace que sean bien tolerados, siendo además materiales estables en el tiempo (Christensen y col., 2003). En nuestro trabajo, por el contrario, observamos que no es el material el que se introduce entre las fibras de colágeno de la matriz extracelular, sino que es la progresiva infiltración por tejido neoformado la que va fragmentando los implantes de Aquamid. Estos mismos autores han descrito la aparición de nódulos e induraciones, cuando se emplean en grandes volúmenes (Christensen y col., 2003), lo que es compatible con los hallazgos de nuestro estudio en el que hemos objetivado la presencia de nódulos de aspecto fibroso que aumentan de densidad a lo largo del tiempo (Fernández-Cossío y col., 2006). En un trabajo experimental en biopsias de piel humana infiltrada con este producto desarrollado por Lemperle, se indica que al cabo de 6 a 9 meses este material se dispersa por las estructuras cutáneas, encontrándose rodeado por macrófagos y fibroblastos, no apreciándose reacción de cuerpo extraño (

Lemperle y col., 2003). En nuestro estudio tampoco hemos evidenciado la presencia de signos que indiquen la instauración de una reacción de cuerpo extraño, pero sí hemos observado que las células de la inflamación invaden de forma importante el material ya desde la primera supervivencia. Zarini y colaboradores, exponen en un estudio sobre biopsias en tejido subcutáneo y almohadilla grasa mamaria de ratas infiltrada con este material, que al cabo de tres meses existe una cápsula fibrosa fina alrededor del implante y algunos macrófagos en su interior, aumentando ambas variables al cabo de trece meses (Zarini y col., 2004). Sin embargo nosotros hemos comprobado que el Aquamid estimula la formación de una cápsula fibrosa de un grosor importante ya desde el primer mes, existiendo una notable densidad celular dentro del producto a la semana de implantación que aumenta de forma progresiva hasta los ocho meses (Fernández-Cossío y col., 2006). Contrariamente, otros autores descartan la presencia de cápsula fibrosa alrededor de los implantes (Breiting y col., 2004).

En el caso del Bio-Alcamid los estudios realizados tanto en biopsias de piel humana (Cammarota y col., 2004) como en ratas (Ramires y col., 2005) señalan que la reacción inflamatoria dentro del producto disminuye en el tiempo, existiendo una cápsula fibrosa fina alrededor del implante. Estos hallazgos coinciden con nuestros resultados, ya que también apreciamos un descenso en la celularidad dentro del producto entre la tercera y cuarta supervivencias, así como la presencia de una cápsula de bajo grosor alrededor del material.

En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado ningún estudio en el que se realicen análisis histológicos desde el punto de vista histomorfométrico con este tipo de materiales.

V.2.2.- POLIMETILMETACRILATO

Al igual que otros autores que han estudiado este material, hemos observado la presencia de lagunas, correspondientes a las microesferas de polimetilmetacrilato, rodeadas de colágeno desde la primera supervivencia. Al contrario que otros autores (Hotta, 2004), no hemos constatado una primera

reabsorción del colágeno empleado en la vehiculización de las mismas, y posterior sustitución del mismo por tejido huésped. Consideramos que este proceso es progresivo y ambos fenómenos coinciden en el tiempo, de forma que al cabo de cuatro meses sólo existe colágeno huésped, caracterizado por la presencia de haces de fibras más estructurados y de mayor densidad, coincidiendo con lo descrito por Lemperle en 1991. El aumento del tejido conectivo que observamos entre las microesferas en los tres primeros meses, coincide con lo observado por otros autores (Aracil y col., 1997; Lemperle y col., 2003).

En ningún caso, hemos apreciado la fagocitosis de las microesferas por parte de los macrófagos a lo largo de los períodos analizados, al igual que se describe en otros trabajos (Homicz y col., 2004). Tampoco hemos constatado ni la migración subdérmica ni transepidérmica del material descrita por McClelland en un estudio experimental en conejos (McClelland y col., 1997).

El infiltrado de células gigantes multinucleadas es cuantificado en algunos trabajos en torno al 1-1,5% del recuento celular total (Lemperle y col., 1991), si bien nosotros hemos observado que dicha cifra es mayor, en torno al 4%.

Aracil y col., realizaron medidas del volumen de implantes de Artecoll inyectado en el dorso de la oreja de conejos, a lo largo de períodos de 30, 60 y 180 días. En este trabajo se evidenció un aumento de volumen de los implantes en las cuatro primeras semanas, permaneciendo posteriormente en valores constantes hasta los seis meses (Aracil y col., 1997). Nosotros encontramos un aumento del espesor y una disminución de la longitud de los implantes entre la primera y última supervivencias, por lo que nos resulta difícil valorar la verdadera variación de volumen de los implantes de Artecoll, si bien podemos deducir que estas modificaciones no son significativas a lo largo de los períodos evaluados.

V.2.3.- POLITETRAFLUOROETILENO (GORE-TEX)

El carácter de la respuesta tisular frente a este material viene determinado por la escasa porosidad del mismo, que dificulta la invasión por parte de las células de la inflamación hacia el interior del mismo tal y como ha sido descrito previamente (Schoenrock y col., 1994; Maas y col., 2001; Panossian y col.,

2004). En este sentido hemos podido corroborar la resistencia que ofrece este material a integrarse en los tejidos en los que se implanta.

Nuestros hallazgos coinciden casi en su totalidad con las observaciones realizadas por Mass y colaboradores en 1993, en un estudio experimental de respuesta tisular frente a implantes subcutáneos de este material en conejos, en el que se describe la presencia de una reacción inflamatoria que tiende a disminuir en el tiempo, sin cambios significativos en lo que se refiere a invasión del producto por tejido fibroso a lo largo del tiempo (Mass y col., 1993). A diferencia de este estudio y de otro publicado por Neel en 1983 también en conejos, hemos observado la tendencia de este producto a inducir una reacción inflamatoria crónica con presencia de abundantes células gigantes de cuerpo extraño fundamentalmente en la periferia del implante al cabo de ocho meses de la implantación.

Existe un estudio experimental en ratas realizado por David E. Taylor y publicado en 1986, en el que se analizan desde el punto de vista histomorfométrico las reacciones tisulares frente a fragmentos de Gore-Tex implantados en diferentes regiones (intraperitoneal, intramuscular y tejido subcutáneo) al cabo de 6 meses. En este trabajo se mide el grosor de la cápsula formada alrededor del implante y se realizan recuentos celulares de fibroblastos, células mononucleares y células gigantes, así como de la densidad del colágeno en el tejido que rodea el implante. Con respecto al grosor capsular los implantes de PTFE, muestran un grosor medio (media de las tres zonas de implantación) de $61,2 \pm 7,7 \mu\text{m}$, similar al valor obtenido por nosotros al cabo de 4 meses ($61,4 \pm 4,6 \mu\text{m}$) y superior al de la última supervivencia analizada en nuestro trabajo ($19,3 \pm 1,5 \mu\text{m}$). La falta de períodos de tiempo más largos nos impide comprobar la tendencia que hemos observado hacia la disminución del grosor capsular entre los cuatro y los ocho meses.

V.2.4.- SILICONA

Una de las características que hemos podido apreciar en las muestras analizadas, es la existencia de un grado variable de desestructuración de la

arquitectura normal de la piel, a lo que se añade la difusión de la silicona tanto hacia el plano dérmico como al musculocutáneo. Esta observación también fue puesta de manifiesto por otros autores en trabajos experimentales con ratas (Rees y col., 1965).

Al igual que otros autores también hemos observado la presencia de lagunas vacías rodeadas de una envoltura fibrosa fina que aumenta de grosor con el tiempo (Rees y col., 1965; Hinderer y col., 1990; Lemperle y col., 2003). Todos los trabajos en los que se hace referencia a la respuesta tisular a implantes de silicona, coinciden en señalar la presencia de macrófagos cargados de vacuolas citoplasmáticas que contienen material de aspecto claro, que se corresponden con el producto inyectado que ha sido fagocitado. Estos macrófagos se encuentran en número variable según los estudios; en uno de ellos se señala que la presencia de este tipo de células de la inflamación es mínimo llegando incluso a desaparecer al cabo de 6 meses (Rees y col., 1965). Por el contrario, nosotros hemos observado un intenso infiltrado inflamatorio hasta el último período evaluado.

La presencia de células gigantes es constante en todos los períodos evaluados, poniendo de manifiesto la instauración de una respuesta inflamatoria de tipo crónico. En otros trabajos se ha demostrado igualmente la presencia de esta estirpe celular, formando parte del infiltrado inflamatorio en el interior de los implantes de silicona (Hinderer y col., 1990; Lemperle y col., 2003).

En el último período evaluado hemos observado la presencia de nódulos fibrosos de aspecto granulomatoso y tamaño variable. Este hallazgo también ha sido previamente descrito (Ballantyne y col., 1965; Lemperle y col., 2003), pudiendo asociarse con la presencia en la práctica clínica de los denominados siliconomas descritos en numerosas publicaciones (Chaplin, 1969; Kuiper, 1973; Nosanchuk, 1968; Piechotta, 1979).

Nos hemos encontrado ningún estudio en el que se realice un análisis histológico cuantitativo de la respuesta tisular a este material de relleno.

Ninguno de los otros aspectos estudiados, como son el análisis comparativo por estirpes celulares, la valoración de los cambios de volumen de los habones de implante, las modificaciones en el grosor del tejido celular subcutáneo o el estudio conjunto de las características de los materiales de origen orgánico y sintético, han sido abordados por otros autores no pudiendo realizar discusión de los mismos. Igualmente, en ninguno en los trabajos experimentales con materiales de relleno incluidos en nuestra revisión, se menciona la posible correlación existente entre los resultados obtenidos y las posibles implicaciones clínicas de los mismos, a pesar de que consideramos éste como uno de los aspectos de mayor relevancia que se desprenden del análisis de la respuesta tisular a estos productos.

VI. CONCLUSIONES

- 1- El modelo experimental y el protocolo de análisis han resultado válidos y reproducibles.
- 2- Nueve de los diez materiales de relleno empleados en nuestro trabajo muestran carácter biocompatible ya que, a lo largo de todos los períodos estudiados, no se han evidenciado signos de necrosis, calcificación, crecimiento tumoral ni infección. Tan solo el Hyaluderm está relacionado con la aparición de signos de degeneración del estrato musculocutáneo.
- 3- La reacción inflamatoria observada en los tejidos expuestos es congruente con la respuesta del organismo ante un cuerpo extraño. En nuestra opinión, cierto grado de reactividad tisular no hace descartar el carácter “biocompatible” de un material de relleno, pudiendo considerarse como una respuesta normal de los tejidos frente a este tipo de sustancias.
- 4- Las células más frecuentemente implicadas y en mayor cantidad en la respuesta de los tejidos a un material de relleno son los macrófagos/histiocitos, seguidas de los fibroblastos, las células gigantes y los polimorfonucleares neutrófilos.
- 5- El Artecoll, la Silicona, el Aquamid y la Agarosa son los productos que presentan mayor reactividad inflamatoria. La grasa, el Perlane, el Bio-Alcamid y el Gore-Tex inducen una menor reacción tisular.
- 6- La respuesta inflamatoria de tipo agudo es más intensa en el Perlane, el Aquamid y el Gore-Tex. La Silicona y el Artecoll inducen una respuesta inflamatoria crónica intensa y duradera.
- 7- La modificación en el grosor del tejido celular subcutáneo sólo está ausente en los implantes de Agarosa y Gore-Tex.
- 8- La respuesta tisular intensa con tendencia a evolucionar hacia un proceso inflamatorio crónico, la presencia de cápsula y la disminución del tejido subcutáneo son más frecuentes en los materiales de origen sintético.

- 9- El gel de Agarosa estudiado se puede considerar como un producto biocompatible y un potencial material de relleno.
- 10- Con respecto a la interpretación clínica de los resultados hemos ordenado los materiales empleados en función de los siguientes criterios:
- a) Riesgo de clínica de inflamación aguda (de mayor a menor): Perlane, Gore-Tex y Aquamid.
 - b) Riesgo de complicaciones asociadas a la presencia de inflamación crónica (de mayor a menor): Artecoll, Silicona y Gore-Tex.
 - c) Estabilidad del material (de mayor a menor): Perlane, Gore-Tex, Bio-Alcamid y Colágeno.
 - d) Posibilidad de explantación (de mayor a menor): Perlane, Bio-Alcamid y Gore-Tex.
 - e) Indicados para el aumento de volumen de tejidos más superficiales: Perlane, Bio-Alcamid y Colágeno.
 - f) Indicados para el aumento de volumen de tejidos profundos: Aquamid, Agarosa, Gore-Tex, Silicona y Artecoll.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Alcalay J, Alkalay R, Gat A, Yorav S. Late-onset granulomatous reaction to Artecoll. *Dermatol Surg* 29:859-862, 2003.
2. Ackerman AB, Jacobson M, Vitale P. Angulated translucent material or angulated spaces within nucleated histiocytes are a clue to the injection of silicone. In: Ackerman AB, Ed. *Clues to diagnosis in dermatopathology I*. Chicago: ASCP Press; 394-396, 1991.
3. Adams JS. Grafts in the head and neck. In Bailey BJ: *Head and Neck Surgery-Otolaryngology*. Philadelphia, JB Lippincott, 1895-1912, 1993.
4. Aida Y, Kamata E, Nakadate MA. A study of the relationships between exposure periods and no-effect doses in repeated dose toxicity tests. *Eisei Shikenjo Hokoku* 110:48, 1992.
5. Allen O. Response to subdermal implantation of textured microimplants in humans. *Aesth Plast Surg* 16:227-230, 1992.
6. Alster TS, West TB. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: current status and role in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 105(7):2515-2525; discussion 2526-2528, 2000. Review.
7. Amard P. PLA (New-Fill) as management of lipoatrophy of the face. *Magazin Aesthet Surg* 1:28, 2001.
8. Amin SP, Marmur ES, Goldberg DJ. Complications from injectable polyacrylamide gel, a new nonbiodegradable soft tissue filler. *Dermatol Surg* 30: 1507-1509, 2004.
9. Anderson JM, Miller KM. Biomaterial biocompatibility and the macrophage. *Biomaterials* 5:5-10, 1984.
10. André P, Wechsler J, Revuz J. Facial lipoatrophy : report of five cases after injection of synthetic filler into nasolabial folds. *J Cosmet Dermatol* 1:59, 2002.
11. Apesos J, Muntzing MG 2nd. Autologen. *Clin Plast Surg* 27(4):507-513, 2000.

12. Aracil JP, Díaz-Torres JM, Martín RF, Villegas M^aC, Armelles A, Royo R, Arenas D. Artecoll. Estudio experimental. *Cir Plast Iberolat* 23(4):389-396, 1997.
13. Argumosa D. *Res Cir I*:215, 1856.
14. Armstrong R, Cooperman LS, Parkinson TM et al. Injectable collagen for soft tissue augmentation. In Boretos JW, Eden M (Eds): *Contemporary Clinical Applications: New Technology and Legal Aspects*. Park Ridge, NJ, Noyes publications, pp 528-536, 1984.
15. Ashinoff R. Overview: soft tissue augmentation. *Clin Plast Surg* 27(4):479-487, 2000. Review.
16. Asken S. Microliposuction and autologous fat transplantation for aesthetic enhancement of the aging face. *J Dermatol Surg Oncol*. 16(10):965-72, 1990.
17. Bakker-Woundenberg IAJM, Lokerse AF, Tan Kate MT et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12 Suppl1:61-67, 1993.
18. Ballantyne DL, Rees TD, Seidman I. Silicone fluid: response to massive subcutaneous injections of dimethylpolysiloxane fluid in animals. *Plast Reconstr Surg* 36(3):330-338, 1965.
19. Batniji RK, Hutchison JL, Dahiya R, Lan SL, Williams III EF. Tissue response to expanded polytetrafluoroethylene and silicone implants in a rabbit model. *Arch Facial Plast Surg* 4:11-113, 2002.
20. Ben-Hur N, Neuman Z. Siliconoma: another cutaneous response to dimethylpolysiloxane. *Plast Reconstr Surg* 36:629-631, 1965.
21. Bent AE, Foote J, Siegel S, Faerber G, Chao R, Gormley EA. Collagen implant for treating stress urinary incontinence in women with urethral hypermobility. *J Urol* 166:1354, 2001.
22. Bergeret-Galley C, Latouche X, Illouz YG. The value of a new filler material in corrective and cosmetic surgery: DermaLive and DermaDeep. *Aesthetic Plast Surg* 25(4):249-255, 2001.

23. Bergueret-Galley, C. Comparison of resorbable soft tissue fillers. *Aesth Surg J* 24: 33, 2004.
24. Billings Jr E, May Jr JW. Historical review and present status of free fat graft autotransplantation in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 83:368, 1989.
25. Boschert MT, Beckert BW, Puckett CL, Concannon MJ. Analysis of lipocyte viability after liposuction. *Plast Reconstr Surg* 109:761, 2002.
26. Boyce RG, Toriumi DM. Considerations in the use of biologic grafts and alloplastic implants in facial plastic and reconstructive surgery. *J Long Term Eff Med Implants* 2(4):199-220, 1992. Review.
27. Breiting V, Aasted A, Jorgensen A, Opitz P, Rosetzsk A. A study on patients treated with polyacrylamide hydrogel injection for facial corrections. *Aesthetic Plast Surg* 28:45, 2004.
28. Broder KW, Cohen SR. An overview of permanent and semipermanent fillers. *Plast Reconstr Surg* 118 (suppl.): 7S-14S, 2006.
29. Brown LH, Frank PJ. What's new in fillers? *J Drugs Dermatol* 2(3):250-253, 2003. Review.
30. Brown BL, Neel HB, Kern EB. Implants of Supramid, Proplast, Plasti-Pore, and Silastic. *Arch Otolaryngol* 105:605-609, 1979.
31. Bruning P, cited by Brockaert TJ. Contribution a l'étude des greffes adipeuses. *Bull Acad R Med Belg* 28:440, 1919.
32. Buelow S, Heimburg D, Pallua N. Efficacy and safety of polyacrylamide hydrogel for facial soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg*. 116(4):1137-46; discussion 1147-8, 2005.
33. Bulletin Collagen Corporation. RE: Bovine spongiform encephalopathy. Palo Alto, CA, Collagen Corp pp 1-6, 1996.
34. Burgess LP, Goode RL. Injectable collagen. *Facial Plast Surg* 8(3):176-182, 1992.
35. Burke KE, Naughton G, Waldo E, Cassai N. Bovine collagen implant: histologic chronology in pig dermis. *J Dermatol Surg Oncol* 9:889, 1983.

36. Burres S. Recollagenation: A new technique for the restoration of pitted acne scars. *Minimally invasive therapy* 3:231, 1994.
37. Burres S. Scar recollagenation. *Laryngoscope* 108:1394, 1998.
38. Butler K, Benghuzzi H, Tucci M, Cason Z. A comparison of fibrous tissue formation surrounding intraperitoneal and subcutaneous implantation of ALCAP, HA, and TCP ceramics. *Biomed Sci Instrum* 34:18-23, 1997.
39. Byrne PJ, Hilger PA. Lip augmentation. *Facial Plast Surg* 20(1):31-38, 2004.
40. Cahill KV, Burns JA. Volume augmentation of the anophthalmic orbit with cross-linked collagen (Zyplast). *Arch Ophtalmol* 107:1684, 1989.
41. Cammarota N, Formigli L, Zecchi S, Orlandini GE, Protopapa C, Lotti TM. Bio-Alcamid: An electron microscopic study. *Plast Reconstr Surg* 113(3): 1104-1106, 2004.
42. Carraway JH, Mellow CG. Syringe aspiration and fat concentration: A simple technique for autologous fat injection. *Ann Plast Surg* 24:293-296, 1990.
43. Castor SA, Wyatt CT, Papay FA. Lip augmentation with Alloderm acellular allogenic dermal graft and fat autograft: A comparison with autologous fat injection alone. *Aesthet Plast Surg* 23:218-223, 1999.
44. Castrow FF 2nd, Krull EA. Injectable collagen implant--update. *J Am Acad Dermatol* 9(6):889-893, 1983.
45. Chajchir A, Benzaquen I. Fat-grafting injection for soft tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 84:921-934, 1989.
46. Chan RW, Titze IR. Viscosities of implantable biomaterials in vocal cord augmentation surgery. *Laryngoscope* 108:725, 1998.
47. Chao YC, Humphreys S, Penfield W. A new method of preventing adhesions: The use of Amnioplastin after craniotomy. *Br Med J* 1:517, 1940.
48. Chaplin CH. Loss of both breasts from injection of silicone (with additive). *Plast Reconstr Surg* 44:447-450, 1969.

49. Cheng NX, Wang YL, Wang JH, Zhang XM, Zhong H. Complications of breast augmentation with injected hydrophilic polyacrylamide gel. *Aesthetic Plast Surg* 26(5):375-382, 2002.
50. Christensen L, Breiting V, Janssen M, Vuust J, Hogdall E. Adverse reactions to injectable soft tissue permanent fillers. *Aesthetic Plast Surg* 29(1):34-48, 2005.
51. Christensen LH, Breiting VB, Aasted A, Jorgensen A, Kebuladze I. Long-term effects of polyacrylamide hydrogel on human breast tissue. *Plast Reconstr Surg* 111(6):1883-1890, 2003.
52. Cohen SR, Holmes RE. Artecoll: a long-lasting injectable wrinkle filler material: report of a controlled, randomized, multicenter clinical trial of 251 subjects. *Plast Reconstr Surg* 114(4):964-976, 2004.
53. Coleman DL, King RN, Andrade JD. The foreign body reaction: a chronic inflammatory response. *J Biomed Mater Res* 8:199-211, 1974.
54. Coleman SR. Facial recontouring with lipostructure. *Clin Plast Surg* 24(2): 347-367, 1997.
55. Coleman WP 3rd, Lawrence N, Sherman RN, Reed RJ, Pinski KS. Autologous collagen? Lipocytic dermal augmentation. A histopathologic study. *J Dermatol Surg Oncol* 19(11):1032-1040, 1993.
56. Coleman WP 3rd. The history of liposuction and fat transplantation in America. *Dermatol Clin* 17:723-727, 1999.
57. Coleman WP 3rd. Lipotransfer. In M.L. Elson (Ed.) *Evaluation and treatment of the aging face*. New York: Springer-Verlag p.101, 1995.
58. Colic MM. Lip and perioral enhancement by direct intramuscular fat auto grafting. *Aesth Plast Surg* 23:36-40, 1999.
59. Comper, WD, Laurent TC. Physiological function of connective tissue polysaccharides. *Physiol Rev* 58:255-315, 1978.
60. Conley J, Baker DC. Thread augmentation for facial rhytids. *Ann Plast Surg* 3:118-129, 1979.

61. Cooperman LS, Mackinnon V, Bechler G, Pharriss BB. Injectable collagen: a six-year clinical investigation. *Aesthetic Plast Surg* 9(2):145-151, 1985.
62. Cooperman LS, Michaeli D. The immunogenicity of injectable collagen. I. A 1-year prospective study. *J Am Acad Dermatol* 10:638-646, 1984.
63. Costantino PD, Friedman CD. Soft-tissue augmentation and replacement in the head and neck. General considerations. *Otolaryngol Clin North Am* 27(1):1-12, 1994. Review.
64. Costantino PD, Govindaraj S, Hiltzik DH, Buchbinder D, Urken ML. Acellular dermis for facial soft tissue augmentation: preliminary report. *Arch Facial Plast Surg* 3(1):38-43, 2001.
65. Costantino PD. Synthetic biomaterials for soft-tissue augmentation and replacement in the head and neck. *Otolaryngol Clin North Am* 27(1):223-262, 1994. Review.
66. Cucin RL, Barek D. Complications of injectable collagen implants. *Plast Reconstr Surg* 71:731, 1983.
67. Davidson PF et al. The serologic specificity of tropocollagen telopeptides. *J Exp Med* 126:331-349, 1967.
68. Dearfield KL, Douglas GR, Ehling UH et al. Acrylamide: A review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutat Res* 330:71, 1995.
69. De Cassia-Novaes W, Berg A. Experiences with a new nonbiodegradable hydrogel (Aquamid): a pilot study. *Aesthetic Plast Surg* 27(5):376-80, 2003.
70. DeLustro F, Fries J, Kang A et al. Immunity to injectable collagen and autoimmune disease: A summary of current understanding. *J Dermatol Surg Oncol* 14(suppl):57-65, 1988.
71. DeLustro F, Smith ST, Sundsmo J, Salem G, Kincaid S, Ellingsworth L. Reaction to injectable collagen: results in animal models and clinical use. *Plast Reconstr Surg* 79(4):581-594, 1987.

72. DeVore D, Kelman C, Fagien S et al. Autologen: Autologous, injectable dermal collagen. In Bosniak S (Ed): Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery. Philadelphia, WB Saunders pp 671-675, 1996.
73. Diniz VM. New use for the temporalis superficialis fascia in the facial contour: lip sculpture. *Aesth Plast Surg* 20:519-526, 1996.
74. Duranti F, Salti G, Bovani B, Calandra M, Rosati ML. Injectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. A clinical and histological study. *Dermatol Surg*. 24(12):1317-25, 1998.
75. Ellis DA, Braig F, Robertson C. Collagen implant: an early assessment. *J Otolaryngol* 13(4):267-270, 1984.
76. Ellis DA, Makdessian AS, Brown DJ. Survey of future injectables. *Facial Plast Surg Clin North Am* 9(3):405-411, 2001. Review.
77. Elson ML. Clinical assessment of Zyplast Implant: a year of experience for soft tissue contour correction. *J Am Acad Dermatol* 18(4 Pt 1):707-713, 1988.
78. Elson ML. Soft tissue augmentation. A review. *Dermatol Surg* 21(6):491-500; quiz 501-502. 1995. Review.
79. Elson ML. The role of skin testing in the use of collagen injectable materials. *J Dermatol Surg Oncol* 15(3):301-303, 1989.
80. Elson, ML. Soft tissue augmentation with allogenic human tissue matrix. *Cosmetic Dermatol* p.24, 1998.
81. Eppley BL, Summerlin DJ, Sadove AM. A potential biomaterial composite for dermal and subcutaneous augmentation. *Ann Plast Surg* 32(5):463-468, 1994.
82. Ersek RA, Beisang AA 3rd. Bioplastique: a new textured copolymer microparticle promises permanence in soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 87(4):693-702, 1991.
83. Ersek RA. Tarnsplantation of purified autologous fat: A 3-year follow-up is dissappointing. *Plast Reconstr Surg* 87:219-227, 1991.

84. Evstatiev D. Late complications after injections of hydrogel in the breast. *Plast Reconstr Surg* 113(6):1878; author reply 1878-1879, 2004.
85. Fagien S, Elson ML. Facial soft-tissue augmentation with allogeneic human tissue collagen matrix (Dermalogen and Dermaplast). *Clin Plast Surg* 28(1):63-81, 2001. Review.
86. Fagien S. Autologous collagen injection to treat deep glabellar frown lines. *Plast Reconstr Surg* 93:642, 1994.
87. Fagien S. Facial Soft tissue augmentation with autologous injectable collagen. In AM Putterman (Ed) *Cosmetic Oculoplastic Surgery. Eyelid, forehead, and facial techniques*, 3er Ed. Philadelphia: Saunders 367-375, 1998.
88. Fagien S. Facial soft-tissue augmentation with allogeneic human tissue collagen matrix (Dermalogen and Dermaplast). *Clin Plast Surg* 28(1):63-81, 2001. Review.
89. Fagien S. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: current status and role in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 105(7):2515-2525; discussion 2526-2528, 2000. Review.
90. Fallopius G. *Opera omnia Francofurti*. Wecheli A (Ed). 1600, p 1.
91. Feretis C, Benakis P, Dimopoulos C et al. Endoscopic implantation of Plexiglas (PMMA) microspheres for the treatment of GERD. *Gastrointest Endosc* 53:423, 2001.
92. Fernández-Cossío S, Castaño-Oreja M. Biocompatibility of two novel dermal fillers: histological evaluation of implants of a hyaluronic acid filler and a polyacrylamide filler. *Plast Reconstr Surg* 117 (6):1789-1796, 2006.
93. Fernández-Cossío S, Castaño-Oreja M, Gude F. Biocompatibility of agarose gel as a dermal filler: histological evaluation of subcutaneous implants. *Plast Reconstr Surg*, in press. Aceptado para publicación Marzo de 2006.
94. Feuske NA, Lober CW. Structural and functional changes of normal aging skin. *J Am Acad Dermatol* 15:111, 1973.

95. Ficarra G, Mosqueda-Taylor A, Carlos R. Silicone granuloma of the facial tissues: a report of seven cases. *Oral Surg Med Oral Pathol Endod* 94(1):65-73, 2002.
96. Filatov AV, Mirolyubov SN. Contour plasty of maxillofacial soft tissues with biocompatible polyacrylamide gel (Russian). *Stomatologiya (Mosk)* 77:45, 1998.
97. Fischer A, Fischer GM. Revised technique for cellulite fat. Reduction in riding breeches deformity. *Bull Int Acad Cosm Surg* 2:40, 1997.
98. Food and Drug Administration § 184.115 Agar-agar. 21 CFR Ch. 1 (4-1-03 Edition)
99. Fournier PF. Facial recontouring with fat grafting. *Dermatol Clin* 8:523, 1990.
100. Freeman RG. Effects of aging on the skin. In E.B.Holwig and F.K. Mostofi (eds.), *The Skin*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1971.
101. Friedman PM, Mafong EA, Kauvar AN, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg* 28:491-494, 2002.
102. García-Domingo MI, Alijotas-Reig J, Cistero-Bahima A, Treserra F, Enrique E. Disseminated and recurrent sarcoid-like granulomatous panniculitis due to bovine collagen injection. *J Invest Allergol Clin Immunol* 10:107, 2000.
103. Geile D, Zinner I, Erbel F, Schaefer M, Osterholzer G. Diagnosis and non-surgical treatment of faecal incontinence in the proctological practice. In: Fruehmorgen P, Bruch H-P Eds. *Non-neoplastic Diseases of the Anorectum*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001.
104. Gersuny JS. Hard-parafin prosthesis. *Zentralbl Chir* 1:86-88, 1903.
105. Gilchrest BA. Age-associated changes in the skin. *J Am Geriatr Soc* 30:139, 1982.

106. Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophtalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. *Drugs* 47: 536-566, 1994.
107. Gold MH. Fibrel. *Dermatol Clin* 13(2):353-361, 1995. Review.
108. Gold MH. The fibrel mechanism of action study: A preliminary report. *J Dermatol Surg Oncol* 20:586, 1994.
109. González UM, Stevens E, Loewe P et al. Preliminary report on the use of subcutaneous perfusion of dimethylpolysiloxane to increase volume and alter regional contour. *Br J Plast Surg* 20:424, 1967.
110. Goode RL. Current status of "soft" implant materials for the face. *Arch Facial Plast Surg* 1(1):60-61, 1999.
111. Gormley DE, Eremia S. Quantitative assessment of augmentation therapy. *J Dermatol Surg Oncol* 16:1147-1151, 1990.
112. Guerrrero-Santos J. The role of the platysma muscle in rhytidoplasty. *Clin Plast Surg* 5:29, 1978.
113. Graivier M, Cohen SR. The semipermanent and permanent dermal/subdermal fillers supplement. *Plast Reconstr Surg* 118 (suppl.): 6S, 2006.
114. Gross J, and Kirk B. The heat precipitation of collagen from neutral salt solution: some rate regulating factors. *J Biol Chem* 233:355, 1958.
115. Hallab NJ, Bundy KJ, O'Connor K, Clark R, Moses RL. Cell adhesion to biomaterials: correlations between surface charge, surface roughness, adsorbed protein, and cell morphology. *J Long Term Eff Med Implants* 5(3):209-231, 1995.
116. Haneke E. Polymethylmethacrylate microspheres in collagen. *Semin Cutan Med Surg* 23(4):227-232, 2004.
117. Hanke CW, Hingley HR, Jolivette DM et al. Abscess formation and local necrosis after treatment with Zyderm or Zyplast collagen implant. *J Am Acad Dermatol* 25:319-326, 1991.

118. Hanke CW. Adverse reactions to bovine collagen. In: Klein AW, Ed. *Tissue Augmentation in Clinical Practice; Procedures and Techniques*. New York: Marcel Dekker 145-154, 1998.
119. Har-Shai Y, Lindenbaum ES, Gamliel-Lazarovich A, Beach D, Hirshowitz B. An integrated approach for increasing the survival of autologous fat grafts in the treatment of contour defects. *Plast Reconstr Surg* 104:945, 1999.
120. Harstick K, Holloway CJ, Brunner G, Kulpmann WR, Petry K. The removal of hypnotic drugs from human serum. A comparative investigation of the adsorptive properties of native and agarose-encapsulated resins and charcoal. *Int J Artif Organs* 2(2): 87-95, 1979.
121. Herbst A. Extrusion of an expanded polytetrafluoroethylene implant after rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg* 104(1):295-296, 1999.
122. Hinderer UT, Escalona J. Dermal and subdermal tissue filling with fetal connective tissue and cartilage, collagen, and silicone: experimental study in the pig compared with clinical results. A new technique of dermis mini-autograft injections. *Aesthetic Plast Surg*;14(4):239-248, 1990 Fall.
123. Hochberg M. The cosmetic surgical procedures and connective tissue disease: the Cleopatra syndrome revisited. *Ann Int Med* 118:981-982, 1993.
124. Hoffmann C, Schuller-Petrovic S, Soyer HP, Kerl H. Adverse reactions after cosmetic lip augmentation with permanent biologically inert implant materials. *J Am Acad Dermatol* 40(1):100-102, 1999.
125. Homicz MR, Watson D. Review of injectable materials for soft tissue augmentation. *Facial Plast Surg* 20(1):21-29, 2004. Review.
126. Hörl HW, Feller AM, Steinau HU, Biemer E. Technik der autologen fettgewebsreimplantation nach fettabsaugung (Liposuction). *Chirurg* 61:320, 1990.
127. Hotta T. Dermal fillers. The next generation. *Plast Surg Nurs* 24(1):14-19, 2004. Review.

128. Illouz YG. Communications at the Societé Française de Chirurgie Esthetique, 1978-1979.
129. Illouz YG. The fat cell "graft", a new technique to fill depressions. *Plast Reconstr Surg* 78:122, 1986.
130. Jacovella PF, Peiretti CB, Cunille D, Salzamendi M, Schechtel SA. Long-lasting results with hydroxylapatite (Radiesse) facial filler. *Plast Reconstr Surg* 118 (suppl.) :15S-21S, 2006.
131. Jailwala J, Shaker R. Newer therapies for gastroesophageal reflux disease: numb, burn, or stich? *Curr Gastroenterol Rep Dermatol* 3:188-190, 2001.
132. Jansen JA, Dhert WJA, Van der Waerden, Von Recum AF. Semi-quantitative and qualitative histologic analysis method for the evaluation of implant biocompatibility. *J of Inv Surg* 7:123-134, 1994.
133. Jansen DA, Graivier MH. Evaluation of a calcium hydroxylapatite-based implant (Radiesse) for facial soft-tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 118(suppl.): 22S-30S, 2006.
134. Jenkins SD, Klamer TW, Parteka JJ, Condon RE. A comparison of prosthetic materials used to repair abdominal wall defects. *Surgery* 94:392-8, 1983.
135. Jeyanthi R, Panduranga K. In vivo biocompatibility of collagen-poly (hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials* 11: 238, 1990.
136. Jiang M, Rubbi CP, Milner JO. Gel-based application of RNA to human epithelial cancer cells induces RNAi-dependent apoptosis. *Oligonucleotides* 14: 239-248, 2004.
137. JIMS, Diccionario Enciclopédico de Medicina. 4ª Edición. Editorial JIMS. ISBN: 84-7092-7205-X, 1980.
138. Johnson G. Body contouring by macroinjection of autogenous fat. *Am J Cosm Surg* 4:103-109, 1987.
139. Kaakedjian G, Taylor P. Hair as a filler material for reconstructive or cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 99(2):443-447, 1997.

140. Kaminer MS, Omura NE. Autologous fat transplantation (Editorial Comment). *Arch Dermatol* 137:723, 2001.
141. Kao JM, Rose R, Yousef M, Hunter SK, Rodgers VG. In vivo biocompatibility evaluation of cibacron blue-agarose. *J Biomed Mater Res* 47(4):537-542, 1999.
142. Keefe J, Wauk L, Chu S, DeLustro F. Clinical use of injectable bovine collagen: a decade of experience. *Clin Mater* 9(3-4):155-162, 1992. Review.
143. Kelly, T.N., Wang, C.C., Mauck, R.L., et al. Role of cell-associated matrix in the development of free-swelling and dynamically loaded chondrocyte-seeded agarose gels. *Biorheology*. 41: 223-237, 2004.
144. Kirkland JL, Hollenberg CH, Kindler S, Gillon WS. Effects of age and anatomic site on preadipocyte number in rat fat depots. *J Gerontol* 49:B31, 1994.
145. Klein AW, Rish DC. Injectable collagen update. *J Dermatol Surg Oncol* 10(7):519-522, 1984.
146. Klein AW, Rish DC. Substances for soft tissue augmentation: collagen and silicone. *J Dermatol Surg Oncol* 11(3):337-339, 1985.
147. Klein AW. Collagen substances. *Facial Plast Surg Clin North Am* 9(2):205-218, viii, 2001. Review.
148. Klein AW. Skin filling. Collagen and other injectables of the skin. *Dermatol Clin* 19(3):491-508, ix, 2001. Review.
149. Klein AW. Indications and implantation techniques for the various formulations of injectable collagen. *J Dermatol Surg Oncol (suppl 1)*:27-30, 1988.
150. Klein AW. In favor of double testing. *J Dermatol Surg Oncol* 15:263, 1989.
151. Kligman AM, Armstrong RC. Histologic response to intradermal Zyderm and Zyplast (glutaraldehyde cross-linked) collagen in humans. *J Dermatol Surg Oncol* 12:351-357, 1986.

152. Knapp TR, Kaplan EN, Daniels JR. Injectable collagen for soft tissue augmentation. *Plast Reconstr Surg* 60(3):398-405, 1977.
153. Knapp TR, Luck E, Daniels JR. Behaviour of solubilized collagen as a bioimplant. *J Surg Res* 23:96-105, 1977.
154. Knapp TR, Vistnes LM. The augmentation of soft tissue with injectable collagen. *Clin Plast Surg* 12(2):221-225, 1985.
155. Kohn RR, Schnider SL. Collagen changes in aging skin. In Balin AL, Kligman AM (Eds): *Aging and the Skin*. Raven Press, New York 121-139, 1989.
156. Kononas TC, Bucky LP, Hurley C et al. The fate of suctioned and surgically removed fat after reimplantation for soft tissue augmentation: A volumetric and histologic study in the rabbit. *Plast Reconstr Surg* 91:763-768, 1993.
157. Kostianovski AS. Upper and lower lip augmentation by buried, deepithelized local flaps: an alternative to the use of foreign material implants when shortening the lips. *Aesth Plast Surg* 5:433-437, 1996.
158. Krauss MC. Recent advances in soft tissue augmentation. *Semin Cutan Med Surg* 18(2):119-128, 1999. Review.
159. Kron J. Injectio fatigue. Interview on ABC News Special Report, "Looking Younger, Living Younger", with Anchor Dr. Nancy Snyderman. New York, August 30, 2002.
160. Kuettner H. Verimpfung an stelle der transplantation hochwertiger organe. *Zentralblatt fur Chirurgie* 1:390-397, 1912, as cited in Popov IM and others. *Journal of the International Academy of Preventive Medicine* 40:74-82, 1977.
161. Kuiper DH. Silicone granulomatous disease of the breast simulating cancer. *Mich Med* 72:215-218, 1973.
162. Larrabee WF, Makielski KH. *Surgical Anatomy of the Face*. New York, Raven Press, 1993.

163. LaVern HG, Baberio JR. Tissue reaction to plastics used in surgery with special reference to Teflon. *Ann Surg* 129:174, 1949.
164. Lemperle G, Hazan-Gauthier N, Lemperle M. PMMA microspheres (Artecoll) for skin and soft-tissue augmentation. Part II: Clinical investigations. *Plast Reconstr Surg* 96(3):627-634, 1995.
165. Lemperle G, Hazan-Gauthier N, Lemperle M. PMMA-microspheres (Artecoll) for long-lasting correction of wrinkles: refinements and statistical results. *Aesthetic Plast Surg* 22:356-365, 1998.
166. Lemperle G, Legaz ME. Biocompatibility of injectable microparticles. *Aesth Plast Surg*, submitted, 2004.
167. Lemperle G, Morhenn V, Charrier U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg* 27:354-366, 2003.
168. Lemperle G, Ott H, Charrier U, Hecker J, Lemperle M. PMMA microspheres for intradermal implantation: Part I. Animal research. *Ann Plast Surg* 26(1):57-62, 1991.
169. Lemperle G, Romano JJ, Busso M. Soft tissue augmentation with Artecoll: 10-year history, indications, techniques and complications. *Dermatol Surg* 29:573-587, 2003.
170. Lemperle G, Rullan PP, Gauthier-Hazan N. Avoiding and treating dermal filler complications. *Plast Reconstr Surg* 118 (suppl.): 92S-112S, 2006.
171. Lewis RP, Schweitzer J, Odum BC, Lara WC, Edlich RF, Gampper TJ. Sheets 3-D strands, tridimensional (3-D) shapes and sutures of either reinforced or nonreinforced expanded polytetrafluoroethylene for facial soft tissue suspension, augmentation, and reconstruction. *J Long Term Eff Med Implants* 8:19, 1998.
172. Loewe O. *Über Hautimplantation an Stelle der freien Faszienplastik.* *Munich Med Wschr* 60:1320, 1913.
173. Lombardi T, Samson J, Plantier F, Husson C, Kuffer R. Orofacial granulomas after injection of cosmetic fillers. Histopathologic and clinical study of 11 cases. *J Oral Pathol Med* 33:115-120, 2004.

174. Losgen H, Brunner G, Holloway et al. Large agarose beads for extracorporeal detoxification systems. *Biomater Med Devices Artif Organs* 6(2):151-173, 1978.
175. Lowe NJ, Maxwell CA, Lowe P, Duick MG, Shah K. Hyaluronic acid skin fillers: adverse reactions and skin testing. *J Am Acad Dermatol* 45(6):930-933, 2001.
176. Lupton JR, Alster TS. Cutaneous hypersensitivity reaction to injectable hyaluronic acid gel. *Dermatol Surg* 26(2):135-137, 2000. Review.
177. Maas CS, Denton AB. Synthetic soft tissue substitutes: 2001. *Facial Plast Surg Clin North Am* 9(2):219-227, viii, 2001. Review.
178. Maas CS, Papel ID, Greene D, Stoker DA. Complications of injectable synthetic polymers in facial augmentation. *Dermatol Surg* 23(10):871-877, 1997.
179. Mak K, Toriumi DM. Injectable filler materials for soft-tissue augmentation. *Otolaryngol Clin North Am* 27(1):211-222, 1994. Review.
180. Maloney B. Soft tissue contouring with acellular dermal matrix grafts. *Am J Cosmetic Surg* 15:369, 1998.
181. Manna F, Dentini M, Desideri P, De Pita O, Mortilla E, Mars B. Comparative chemical evaluation of two commercially available derivatives of hyaluronic acid (Hylaform from rooster coombs and Restylane from Streptococcus) used for soft tissue augmentation. *J Eur Acad Dermatol Venerol* 13:183, 1999.
182. Margel S, Marcus L. Specific hemoperfusion through agarose microbeads. *Appl Biochem Biotechnol* 12(1): 37-66, 1986.
183. Mass CS, Gnepp DR, Bumpous J. Expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex soft-tissue patch) in facial augmentation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 119:1008-1014, 1993.
184. Mass CS, Merwin GE, Wilson J, Frey MD, Maves MD. Comparison of biomaterials for facial bone augmentation. *Arch Otolaryngol* 116:551-556, 1990.

185. Matarasso SL, Carruthers JD, Jewell ML and the Restylane Consensus Group. *Plast Reconstr Surg* 117,3S-35S, March Supplement 2006.
186. Matti BA, Nicolle FV. Clinical use of Zyplast in correction of age- and disease-related contour deficiencies of the face. *Aesthetic Plast Surg* 14(3):227-234, 1990.
187. Mayer R, Lightfoot M, Jung T. Preliminary evaluation of calcium hydroxylapatite as a transurethral bulking agent for stress urinary incontinence. *Urology* 57:434, 2001.
188. McClelland M, Egbert B, Hanko V, Berg RA, DeLustro F. Evaluation of artecoll polymethylmetacrylate implant for soft-tissue augmentation: biocompatibility and chemical characterization. *Plast Reconstr Surg* 100(6):1466-1474, 1997.
189. McCollister DD, Hake CL, Sadek SE et al. Toxicologic investigations of polyacrylamides. *Toxicol Appl Pharmacol* 7:639, 1965.
190. McCoy JP Jr, Schade W, Siegle RJ, Waldinger TP, Vanderveen EE, Swanson NA. Characterization of the humoral immune response to bovine collagen implants. *Arch Dermatol* 121:990-994, 1985.
191. McGregor JC, Lindop GBM: The behavior of stored and freeze-dried human fascia lata in rats. *Br J Plast Surg* 27:155-164, 1974.
192. McPherson JM, Ledger PW, Sawamura S et al. The preparation and physicochemical characterization of an injectable form of reconstituted, glutaraldehyde cross-linked, bovine corium collagen. *J Biomed Mater Res* 20:79-92, 1986.
193. McPherson JM, Ledger PW, Sawamura S et al. An examination of the biologic response to injectable, glutaraldehyde cross-linked collagen implants. *J Biomed Mater Res* 20:79, 1986.
194. Merritt K, Shafer JW, Brown SA. Implant site infection rates with porous and dense materials. *J Biomed Mater Res* 13:101-108, 1979.
195. Milojevic B. Complications after silicone injection therapy in aesthetic plastic surgery. *Aesthetic Plast Surg* 6(4):203-206, 1982.

196. Miloro M. Gore-Tex for nasal augmentation. *Plast Reconstr Surg* 95(7):1334-1335, 1995.
197. Morhead JM, Holt GR. Soft-tissue response to synthetic biomaterials. *Otolaryngol Clin North Am* 27:195-201, 1994.
198. Morhenn VB, Lemperle G, Gallo RL. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol Surg* 28:484-490, 2002.
199. Morhenn, D. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol Surg* 28:484, 2002.
200. Moscona RR, Bergman RB, Friedman-Birnbaum R. An unusual late reaction to Zyderm I injections: a challenge for treatment. *Plast Reconstr Surg*; 92:165-168, 1993.
201. Moscona R, Ullman Y, Har-Shai Y et al. Free fat injections for the correction of hemifacial atrophy. *Plast Reconstr Surg* 85:501, 1989.
202. Moseley TA, Zhu M, Hedrick MH. Adipose-derived stem and progenitor cells as fillers in plastic and reconstructive surgery. *Plast Reconstr Surg* 118 (Suppl.): 121S-128S, 2006.
203. Murray CA, Zloty D, Warshawski L. The evolution of soft tissue fillers in clinical practice. *Dermatol Clin* 23:343-363, 2005.
204. Narins RS, Beer K. Liquid injectable silicone: a review of its history, immunology, technical considerations, complications, and potential. *Plast Reconstr Surg* 118 3S: 77S-84S, 2006.
205. Narins RS, Brandt F, Leyden J, Lorenc ZP, Rubin M, Smith S. A randomized, double-blind, multicenter comparison of the efficacy and tolerability of Restylane versus Zyplast for the correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg* 29(6):588-595, 2003.
206. Neel HB. Implants of Gore-Tex. Comparisons with teflon-coated polytetrafluoroethylene carbon and porous polyethylene implants. *Arch Otolaryngol* 109:427-433; 1982.

207. Neuber F. Fettransplantation. Chir Kongr Verhandl Dsch Gesellch Chir 22:66, 1893.
208. Nguyen A, Pasyk KA, Bouvier TN et al. Comparative study of survival of autologous adipose tissue taken and transplanted by different techniques. Plast Reconstr Surg 85:378-386, 1990.
209. Nicolle FV. Correction of age- and disease-related contour deficiencies of the face. Aesthetic Plast Surg 9(2):159-162, 1985.
210. Nicolle FV. Use of Zyderm in the aging face. Aesthetic Plast Surg 6(4):193-195, 1982.
211. Nosanchuk JS. Silicone granuloma in breast. Arch Surg 97:583-585, 1968.
212. Nunery WR, Hetzler KJ. Dermal graft as a primary enucleation technique. Ophtalmology 92:1256, 1985.
213. Olenius M. The first clinical study using a new biodegradable implant for the treatment of lips, wrinkles, and folds. Aesth Plast Surg 22:97-101, 1998.
214. Orentreich D, Jones D. Liquid injectable silicone. In Procedures in cosmetic dermatology: soft tissue augmentation. New York: Elsevier, 2005. Pp. 77-91.
215. Orentreich D. Liquid injectable silicone: techniques for soft-tissue augmentation. Clin Plast Surg 27:595-612, 2000.
216. Orentreich DS, Orentreich N. Injectable fluid silicone. In: Roenigk, RK and Roenigk HH Jr. Eds. Dermatologic Surgery Principals and Practice. New York: Marcel Dekker 1349-1395, 1989.
217. Overholt MA, Tscharr JA, Font RL. Granulomatous reaction to collagen implant: light and electron microscopic observations. Cutis 51:95-98, 1993.
218. Pacini S, Ruggiero M, Cammarota N, Protopapa C, Gulisano M. Bio-Alcamid, a novel prosthetic polymer, does not interfere with

- morphological and functional characteristics of human skin fibroblasts. *Plast Reconstr Surg* 111:489, 2003.
219. Pacini S, Ruggiero M, Cammarota N, Protopapa C, Gulisano P. Bio-Alcamid: a novelty for reconstructive and cosmetic surgery. *It J Anat Embryol* 107:209, 2003.
220. Panossian A, Garner WL. Polytetrafluoroethylene facial implants: 15 years later. *Plast Reconstr Surg* 113(1):347-349, 2004.
221. Peer LA. Loss of weight and volume in human fat grafts. *Plast Reconstr Surg* 5:217, 1950.
222. Pellacani G, Seidenari S. Variations in facial skin thickness and echogenicity with site and age. *Acta Dermatol Venereol*. 79:366, 1999.
223. Piacquadio D, Jarcho M, Goltz R. Evaluation of hylan b gel as a soft-tissue augmentation implant material. *J Am Acad Dermatol* 36(4):544-549, 1997.
224. Piechotta FU. Silicone fluid, attractive and dangerous. *Aesthet Plast Surg* 3:347-355, 1979.
225. Pierce HE. Collagen pretest. *J Natl Med Assoc* 76:304-305, 1984.
226. Pinski KS, Coleman WP 3rd. Microlipoinjection and autologous collagen. *Dermatol Clin* 13(2):339-351, 1995. Review.
227. Pinski KS, Roenigk HH Jr. Autologous fat transplantation. *J Dermatol Surg Oncol* 18:179-184, 1992.
228. Pollack SV. Silicone, fibrel, and collagen implantation for facial lines and wrinkles. *J Dermatol Surg Oncol* 16(10):957-961, 1990. Review.
229. Prime F Jr. The prevention of postoperative adhesions between the cortex and dura. *Univ Penn Med Bull* 22:57, 1909.
230. Radiance Package Insert. Franksville (WI): Bioform Inc., 2003.
231. Rae T. The macrophage response to implant materials. *Crit Rev Biocompatibility* 2:97, 1986.

232. Ramires PA, Miccoli MA, Panzarini E, Dini L, Protopapa C. In vitro and in vivo biocompatibility evaluation of a polyalkylimide hydrogel for soft tissue augmentation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 15;72; 2005.
233. Rapaport MJ, Vinnik C, Zarem H. Injectable silicone: cause of facial nodules, cellulites, ulceration, and migration. *Aesth Plast Surg* 20:267, 1996.
234. Rees TD, Platt J, Ballantyne DL. An investigation of cutaneous response to dimethylpolysiloxane (Silicone Liquid) in animals and humans- a preliminary report. *Plast Reconstr Surg* 35(2):131-139, 1965.
235. Reisberger E-M, Landthaler M, Wiest L, Schroder J, Stolz W. Foreign body granulomas caused by polymethylmethacrylate microspheres. *Arch Dermatol* 139:17-20, 2003.
236. Requena C, Izquierdo MJ, Navarro M, Martínez A, Vilata JJ, Amorrortu J, Sabater V et al. Adverse reactions to injectable aesthetic microimplants. *Am J Dermatopathol* 23(3):197-202, 2001.
237. Rieck B, Schlaak S. Measurement in vivo of the survival rate in autologous adipocyte transplantation. *Plast Reconstr Surg* 111: 2315-2323, 2003.
238. Robbins Patología Humana. Kumar V, Cotran RS, Robbins S; 7ª Edición, 2003, Ed.Harcourt S.A., Madrid.
239. Robertson KM, Dyer WK 2nd. Expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) augmentation of deep nasolabial creases. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 122:664-670, 1996.
240. Robertson KM, Dyer WK 2nd. The use of fillers in the aging patient. *Facial Plast Surg* 12(3):293-301, 1996.
241. Robinson JK, Hanke CW. Injectable collagen implant: histopathologic identification and longevity of correction. *J Dermatol Surg Oncol* 11(2):124-130, 1985.
242. Rohrich RJ, Rios JL, Fagien S. Role of new fillers in facial rejuvenation: a cautious look. *Plast Reconstr Surg* 112:1899, 2003.

243. Rohrich RJ, Sorokin ES, Brown SA. In search of improved fat transfer viability: a quantitative analysis of the role of centrifugation and harvest sites. *Plast Reconstr Surg* 113:391-397, 2004.
244. Rohrich, RJ. Introduction to the Restylane Consensus Statement. Consensus Recommendations for Soft-Tissue Augmentation with Nonanimal Stabilized Hyaluronic Acid (Restylane®) (NASHA). *Plast Reconstr Surg* 2006;3:117, March Supplement 1S-2S, 2006.
245. Rotter N, Aigner J, Naumann A, Plank et al. Cartilage reconstruction in head and neck surgery: comparison of resorbable polymer scaffolds for tissue engineering of human septal cartilage. *J Biomed Mater Res* 42: 347-356, 1998.
246. Rubin AL et al. Tropocollagen: significance of protease induced alterations. *Science* 139:37, 1963.
247. Rubin JP, Yaremchuck MJ. Complications and toxicities of implantable biometrics used in facial reconstructive and aesthetic surgery: A comprehensive review of literature. *Plast Reconstr Surg* 100(5):1336-1358, 1997.
248. Rudolph CM, Soyer HP, Schuller-Petrovic S, Kerl H. Foreign body granulomas due to injectable aesthetic implants. *Am J Surg Pathol* 23(1):113-117, 1999.
249. Saray A. Porcine dermal collagen (Permacol) for facial contour augmentation: preliminary report. *Aesthetic Plast Surg* 27(5):368-375, 2003.
250. Saur BW, Weinstein AM, Klawitter JJ et al. The role of porous polymeric materials in prosthesis attachment. *J Biomed Mater Res Symp* 5(part 1):145-153, 1974.
251. Schmitt FO, Levine L, Rubin AL et al. The antigenicity of tropocollagen. *Proc Natl Acad Sci USA* 51:493-497, 1964.
252. Schmitt FO et al. The antigenicity of tropocollagen. *Proc Nat Acad Sci USA* 51:493, 1964.

253. Schoenrock LD, Reppucci AD. Correction of subcutaneous facial defects using Gore-Tex. *Facial Plast Surg Clin North Am* 2:373, 1994.
254. Sclafani AP, Romo T 3rd, Jacono AA, McCormick S, Cocker R, Parker A. Evaluation of acellular dermal graft in sheet (AlloDerm) and injectable (micronized AlloDerm) forms for soft tissue augmentation. Clinical observations and histological analysis. *Arch Facial Plast Surg* 2(2):130-136, 2000.
255. Sclafani AP, Romo T 3rd, Jacono AA, McCormick SA, Cocker R, Parker A. Evaluation of acellular dermal graft (AlloDerm) sheet for soft tissue augmentation: a 1-year follow-up of clinical observations and histological findings. *Arch Facial Plast Surg* 3(2):101-113, 2001.
256. Sclafani AP, Romo T 3rd, Parker A, McCormick SA, Cocker R, Jacono A. Autologous collagen dispersion (Autologen) as a dermal filler: clinical observations and histologic findings. *Arch Facial Plast Surg* 2(1):48-52, 2000.
257. Sclafani AP, Romo T 3rd. Injectable fillers for facial soft tissue enhancement. *Facial Plast Surg* 16(1):29-34, 2000. Review.
258. Selmanowitz VJ, Orentreich N. Medical grade fluid silicone: a monographic review. *J Dermatol Surg Oncol* 3(6):597-611, 1977.
259. Shortliffe LM, Freiha FS, Kessler T, Stamey TA, Constantinou CE. Treatment of urinary incontinence by the periurethral implantation of glutaraldehyde crosslinked collagen. *J Urol* 141:538-541, 1989.
260. Sidman RL. The direct effect of insulin on organ cultures of brown fat. *Anat Rec.* 124(4):723-39, 1956.
261. Sittinger M, Perka C, Schultz O, Haupl T, Burmester GR. Joint cartilage regeneration by tissue engineering. *Z Rheumatol* 58(3): 130-135, 1999.
262. Sklar JA, White SM. Radiance FN: A New Soft Tissue Filler. *Dermatol Surg* 30:764-768, 2004.
263. Smahel J. Adipose tissue in plastic surgery. *Ann Plast Surg* 16(5):444, 1986.

264. Smith EA, Oehme FW. Acrylamide and polyacrylamide: A review of production, use, environmental fate and neurotoxicity. *Rev Environ Health* 9:215, 1991.
265. Soyer HP, Petrisch P, Glavanovitz P, Kerl H. Sklerosierendes Lipogranulom (Paraffingranulom) des Penis unter dem klinischen Bild eines Karzinoms. *Hautarzt* 39:174-176, 1988.
266. Soyer T, Lempier MA, Cooper P et al. A new venous prosthesis. *Surgery* 72 :864-872, 1972.
267. Spector M, Cease C, Tong-Li X. The local tissue response to Biomaterials. *Crit Rev Bioc* 5(3): 269-295, 1989.
268. Spira M, Rosen T. Injectable soft tissue substitutes. *Clin Plast Surg* 20(1):181-188, 1993. Review.
269. Stegman SJ, Chu S, Armstrong RC. Adverse reactions to bovine collagen implant: Clinical and histologic features. *J Dermatol Surg Oncol* 14(suppl 1):10-11; 1988.
270. Strutton G. The granulomatous reaction pattern. Weedon D, Ed. *Skin Pathology*. Edinburgh: Churchill Livingstone 161-184, 1997.
271. Tashiro H, Iwata H, Warnock GL et al. Characterization and transplantation of agarose microencapsulated canine islets of Langerhans. *Ann Transplant* 2(3): 33-39, 1997.
272. Taylor DE, Penhallow JE. Comparative biotolerance of polyacrylamide-agarose gel, silicone rubber and microporous PTFE as soft tissue implants. *Biomaterials* 7:277-282, 1986.
273. Taylor P, Kaakedjian G. Preliminary studies of the use of nail as a material for reconstructive or cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 101(5):1276-1279, 1998.
274. Teimourian B, Chajchir A, Gotkin R et al. Semiliquid autologous fat transplantation. *Advances in Plastic and Reconstructive Surgery* 5:57, 1989.

275. Timpl R, Beil W, Furthmayr H, Meigel W, Pontz B. Characterization of conformation independent antigenic determinants in the triple-helical part of calf and rat collagen. *Immunology* 21:1017, 1970.
276. Truswell WH. Dual-porosity expanded polytetrafluoroethylene soft tissue implant. *Arch Facial Plast Surg* 4:92, 2002.
277. Tzikas TL. Evaluation of the Radiance FN soft tissue filler for facial soft tissue augmentation. *Arch Facial Plast Surg* 6(4):234-239, 2004.
278. VanFurth R. Current review on the mononuclear phagocyte system. *Immunology* 161:178-185, 1982.
279. Vilar-Sancho B. An old story: An ivory nasal implant. *Aesthetic Plast Surg* 11:157, 1987.
280. Voy ED, Mohasseb J. Lipoatrophie als seltene komplikation nach Auffüllung der Nasolabialfalten mit injizierbaren Implantaten. *Magazin Aesth Chir* 2, 2002.
281. Wainwright D, Madden M, Luterman A et al. Clinical evaluation of an acellular allograft dermal matrix in full-thickness burns. *J Burn Care Rehabil* 17:124, 1996.
282. Wall SJ, Adamson PA, Bailey D et al. Patient satisfaction with expanded poly-tetrafluoroethylene (Softform) implants to the perioral region. *Arch Facial Plast Surg* 5:320-324, 2003.
283. Wall SJ, Adamson PA. Augmentation, enhancement, and implantation procedures for the lips. *Otolaryngol Clin North Am* 35(1):87-102, vi, 2002. Review.
284. Webster RC, Fuleihan NS, Gaunt JM, Hamdan US, Smith RC. Injectable silicone for small augmentations: twenty year experience in humans. *Am J Cosmetic Surg* 1(4):1-10, 1984.
285. Webster RC, Fuleihan NS, Hamdan US et al. Injectable silicone: report of 17.000 facial treatments since 1962. *Am J Cosm Surg* 3:41-44, 1986.

286. Webster RC, Gaunt JM, Hamdan US, Fuleihan NS, Smith RC. Injectable silicone for facial soft-tissue augmentation. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 112:290-296, 1986.
287. Wegener EH: Zur frage der stirnfaltenkorrektur. *Med Kosmet* 5:136, 1957.
288. Willert H-G, and Buchhorn, G. (Eds.) *Knochenzement: Werkstoff, Klinische Erfahrungen, Weiterentwicklungen*. Bern, Stuttgart, Toronto: Huber 1987.
289. Williams D (Ed): *Concise Encyclopedia of Medical and Dental Materials*. Oxford, Pergamon Press, 1990.
290. Woerle B, Hanke CW, Sattler G. Poly-L-lactic acid: a temporary filler for soft tissue augmentation. *J Drugs Dermatol* 3(4):385-389, 2004.
291. Zarini E, Supino R, Pratesi G, Laccabue D, Torotoreto M, Scanziani E, Gjislani G, Paltrinieri S, Tunesi G, Nava M. Biocompatibility and tissue interactions of a new filler for medical use. *Plast Reconstr Surg* 114(4): 934-942, 2004.
292. Ziats NP, Miller KM, Anderson JM. In vitro and in vivo interactions of cells with biomaterials. *Biomaterials* 9:5-13, 1998.
293. Zyderm skin test package insert. Collagen Corporation, Palo Alto, California, 1991.

VIII. TRABAJOS PUBLICADOS

TRABAJO NÚMERO 1

"Biocompatibility of Two Novel Dermal Fillers: Histological Evaluation of Implants of a Hyaluronic Acid Filler and a Polyacrylamide Filler"

Plast Reconstr Surg. 2006 May;117(6):1789-96.

ISSN 0032-1052/ Factor de impacto: 1,692

----- Original Message -----

From: "Plastic and Reconstructive Surgery" <PRS@Plasticsurgery.org>

To: <scossio@arrakis.es>

Sent: Thursday, April 14, 2005 5:19 PM

Subject: PRS Decision

RE: PRS-D-05-00324, entitled "Biocompatibility of Two Novel Dermal Fillers: Histological Evaluation of Implants of a Hyaluronic Acid Filler and a Polyacrylamide Filler"

Dear Dr. Fernández,

I have received the comments of the reviewers on your manuscript; a copy is included below. The reviewers believe that your studies are of potential interest to our readers but feel that substantial revision would be necessary before the paper could be considered again for publication in the Plastic and Reconstructive Surgery.

If you are willing to revise the manuscript, taking into consideration the suggestions of the reviewers, I may send the revised paper to the original reviewers for their appraisal.

PLEASE INCLUDE WITH YOUR REVISED SUBMISSION AN ITEMIZED, POINT-BY-POINT RESPONSE TO THE COMMENTS OF THE REVIEWERS. IN THE TEXT OF THE PAPER, PLEASE INDICATE WHERE YOU HAVE MADE REVISIONS BY USING RED TEXT.

The revisions should be completed within the next ninety days to avoid being considered as a new submission. If you are unable to revise the paper within this time frame, please contact the Editorial Office.

Reviewer Comments:

Reviewer #1: MANUSCRIPT NUMBER 05-00324
BIOSTATISTICAL REVIEW

In this manuscript the authors report on the results of an experiment performed to determine tissue responses in male Sprague-Dawley rats to a hyaluronic acid filler (Restylane Perlane ® or RP) and a polyacrylamide gel diller (Aquqmid® or AQ). The rats were randomly assigned to four groups of n=20 each; group 1 RP implant, group 2 AQ implant, group 3 placebo injected with physiological serum, and group 4 untreated control. The authors describe how the treatments were injected into the interauricular region. At the end of four periods (1 week, 1 month, 4 months, or 8 months) five rats were sacrificed per group. Hence, the study design is a two-way factorial design (treatment x time). Qualitative analyses included histopathologic examination of tissue responses over time (migration, stability, or degradation of implants, presence of capsule, and type of infiltration). The results are reported in photos by time period, in Table 1, and in the text, Quantitative analyses included capsule thickness and number of mononuclear cells inside the implant (seven sections were analyzed per rat). No

analyses were done for the two control groups since their results were similar. For the two treatment groups, they were compared for each time period separately using the Mann Whitney non-parametric test. The results are given in the text, a box plot, and in Table 2. In the discussion section the authors point out that RP and AQ show very different tissue reactions. RP appears to be more stable over time and AQ showed some biodegradation. The manuscript was written in a clear and concise manner. Specific comments include:

1. In the methods subsection of the abstract, the authors should briefly mention the four groups and the sample sizes.
2. On page 10 where the histomorphometric results are given, the authors should consider adding p-values at the end of the sentences that mention significant results.
3. In the legend for Figure 12, the authors should describe what is displayed in the box plots. It looks like the dark horizontal line is the median and the two ends of the boxes are the 25th and 75th quartiles. The authors should check this out and tell the reader what it is since different programs print out different statistics. Looking at these plots confirms that the decision to use a non-parametric test was a sensible one.
4. In Table 1, in the legend the authors refer to capsule thickness and in the table it is labeled capsule layers. In Table 2, the word thickness should be added after capsule in the first column. The legend for Table should tell the reader that p-values are given.

Reviewer #2: This is an excellent paper/article illustrating 2 commonly used fillers internationally. Yet, polyacrylamide is not yet approved (FDA) and very little used in the US. Nonetheless, this information is very important. The study is well executed and is worth reading as the information corrolates well at least regarding the extreme apparent (clinical) "biocompatibility" of hyaluronic acid products, particularly Restylane and Perlane

Date: 04-21-2005

To: "Sergio Fernández-Cossío" scossio@arrakis.es

From: "Plastic and Reconstructive Surgery" PRS@Plasticsurgery.org

Subject: PRS Decision

RE: PRS-D-05-00324R1, entitled "Biocompatibility of Two Novel Dermal Fillers: Histological Evaluation of Implants of a Hyaluronic Acid Filler and a Polyacrylamide Filler"

Dear Dr. Fernández-Cossío,

I am pleased to inform you that your work has now been accepted for publication in Plastic and Reconstructive Surgery. Congratulations! All manuscript materials will be forwarded immediately to the production staff for placement in an upcoming issue. The Editorial Office will inform you of the publication date once your manuscript has been assigned to a specific issue.

Acceptance for publication is made with the understanding that the material in your submission has not been previously published and will not be submitted for publication elsewhere before it appears in the journal.

There should be no announcements or news releases about your article until the day before the date of publication.

If you have not already done so, please inform us immediately if you or any co-authors have any financial relationships with any company whose products are mentioned in your article or a company making a competing product.

If you have not already done so, please have each author sign and return the copyright release form.

Thank you for submitting your interesting and important work to the journal. We look forward to receiving more manuscripts from you in the future.

<http://prs.edmgr.com/>

username: sergiofcs

password: fernandez645

With Kind Regards,

Rod J. Rohrich, M.D.

Editor

Plastic and Reconstructive Surgery

Biocompatibility of Two Novel Dermal Fillers: Histological Evaluation of Implants of a Hyaluronic Acid Filler and a Polyacrylamide Filler

Sergio Fernández-Cossío,
M.D.

María Teresa Castaño-
Oreja, M.D., Ph.D.

Santiago de Compostela, Spain

Background: Several biomaterials are currently available for soft-tissue augmentation. Biocompatibility is an indispensable condition for any such product. Appropriate histologic evaluation is a prerequisite for understanding the responses of tissues to implant materials. Recently, hyaluronic acid and polyacrylamide gel products have been introduced as dermal fillers. Both types of product are widely considered to be biocompatible.

Methods: The present study compared tissue responses in a rat in vivo model ($n = 80$) to a hyaluronic acid filler (Restylane Perlane; Q-Med AB, Uppsala, Sweden) and a polyacrylamide gel filler (Aquamid; Contura SA, Montreux, Switzerland). Four groups were evaluated: group 1 ($n = 20$) received the Restylane Perlane implant, group 2 received the Aquamid implant ($n = 20$), group 3 comprised a placebo group ($n = 20$), group 4 was the control group ($n = 20$). Responses and biocompatibility were assessed by histopathologic and histomorphometric evaluations between 1 week and 8 months after implantation.

Results: The two products induced very different tissue responses. The polyacrylamide gel filler was highly bioactive, undergoing cell infiltration and integration into tissues. The hyaluronic acid filler underwent minimal cell infiltration, and the product remained surrounded by a uniformly thin capsule.

Conclusions: This study reveals that two soft-tissue fillers considered to be biocompatible induce very different tissue reactions. This indicates that their behavior in clinical practice is likely to be different. (*Plast. Reconstr. Surg.* 117: 1789, 2006.)

The search for filler materials suitable for use in plastic and cosmetic surgery has been an ongoing effort for decades and the subject of numerous research studies.¹ The outcome has been the appearance of a wide variety of candidate agents, which can be classified as those of organic or synthetic origin. In general, synthetic products are permanent and organic fillers have a limited lifespan.

The ideal filler should be safe and effective; it should be biocompatible, nonimmunogenic,

easily obtainable, nonreabsorbable, low in cost, and easily stored.² It should also be easy to remove if necessary.³ Biocompatibility is considered to be an indispensable condition for a dermal filler, and it is basically determined by the host tissue response to implants.⁴ Substances recognized as foreign by the body induce an inflammatory reaction in tissues. Less inflammation usually results in a longer-lasting tissue filler.⁵

Acute tissue reactions are manifested clinically as immediate adverse events shortly after injection, such as pain, edema, or erythema. These events are localized and transient.⁶ Early histologic reactions do not enable prediction of possible late reactions to filler substances.⁷ Mid- to long-term secondary effects are due to chronic inflammatory reactions in tissues, in response to a permanent external stimulus. These delayed events do not have a well-known origin and are sometimes, in fact, idiosyncratic.⁸ Interaction of

From the Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Clinical University Hospital, and the Department of Morphological Sciences, Santiago de Compostela University Medical School.

Received for publication February 20, 2005; revised April 19, 2005.

Copyright ©2006 by the American Society of Plastic Surgeons

DOI: 10.1097/01.prs.0000214656.07273.b0

implanted materials with cells leads to responses that may compromise the long-term efficiency and safety of the implant.⁹ Delayed skin reactions are being reported less frequently as newer products are introduced,^{10,11} but they are nevertheless important because they are difficult to treat effectively.^{12,13}

The most recent generation of filler materials includes injectable products based on hyaluronic acid and polyacrylamide gels. Hyaluronic acid fillers, such as Restylane Perlane (Q-Med AB, Uppsala, Sweden), and polyacrylamide gel fillers, such as Aquamid (Contura SA, Montreux, Switzerland), are homogeneous gels with viscosity and elasticity suitable for injection into soft tissues. Both are widely considered to be biocompatible.

The aim of this study was to compare the bioactivity of these two filler materials. To this end, histological effects of subcutaneous implants in rats were evaluated after survival periods of 1 week to 8 months.

MATERIALS AND METHODS

Products

Restylane Perlane is a modified hyaluronic acid. Hyaluronic acid is a molecule present in connective tissues, interstitial membranes, dermis, joints, and the vitreous body of the eye. It is a long-chain polysaccharide formed from repeated disaccharide units of glucuronic acid and N-acetyl glucosamine. Pure hyaluronic acid, even in its longest polymeric form, degrades quickly in tissues. Hyaluronic acid derivatives have been developed with modified physical and rheological characteristics, making them suitable for tissue augmentation.¹⁴ Restylane Perlane is a non-animal-derived product obtained by bacterial fermentation of *Streptococcus* strains (*Streptococcus equi* or *Streptococcus zooepidemicus*) and stabilized by a chemical cross-linking process. It has approximately 10,000 particles of gel per milliliter.

Aquamid is a polyacrylamide gel. Polyacrylamide gels are polymers of variable molecular weight (from 2×10^5 to 2×10^7 D) obtained by the polymerization of acrylamide. They are considered to be nontoxic because of the inability of the polymer molecules to pass through biological membranes due to their large size. Polyacrylamides are extremely resistant to biodegradation. They have been used in plastic and aesthetic surgery for more than 10 years.¹⁵ Aquamid contains 2.5% acrylamide and 97.5% nonpyrogenic water. Polymerization is achieved by cross-linking of

acrylamide monomers with N,N-methylenebisacrylamide.

Both products are presented as homogeneous gels that are stable at room temperature. Neither manufacturer suggests a need for skin testing before injection.^{11,16}

Animals

Eighty male Sprague-Dawley rats weighing 250 to 300 g were used in the experiments. They were randomly divided into groups of 20 rats each, as follows: group 1, Restylane Perlane implant; group 2, Aquamid implant; group 3, physiological serum (placebo); and group 4, untreated (control).

Procedure

Before surgery, rats were anesthetized by intraperitoneal injection of 100 mg/kg of 5% sodium pentothal. Povidone-iodine solution was used to prepare the surgical site, and 0.10 ml of each product or physiological serum was then injected subcutaneously in the interauricular region. Animals were maintained under a 12-hour day/night cycle and fed a standard feed with water ad libitum. At the end of each experimental period (1 week, 1 month, 4 months, or 8 months), five rats per group were euthanized by anesthetic overdose. Animal management was in accordance with the principles of the International Council for Laboratory Animal Science and Directive 86/609/EEC on the Protection of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes.

Histological and Statistical Analysis

After euthanization, both the implant and the surrounding tissues were excised, fixed in 10% buffered formalin, embedded in Paraplast Plus (Sherwood Medical Co., St. Louis, Mo.), sectioned at 6 μ m, and stained with hematoxylin and eosin. Tissue reactivity to implants was assessed by qualitative and quantitative histological evaluation. The qualitative analysis included histopathologic examination of tissue response over time. Migration of the product, stability or degradation of implants, presence of capsule, and type of infiltration were examined. The quantitative analysis was based on measurements of capsule thickness and counting of mononuclear cells inside the implant. Seven stained sections were analyzed per rat. The distance between two consecutive sections was at least 180 μ m. Digital photomicrographs were taken using an Olympus BX40 microscope fitted with a microphotography attachment and processed with MicroImage image analysis software (MediaCybernetics, Silver Spring,

Volume 117, Number 6 • Hyaluronic Acid and Polyacrylamide Fillers

Md.). The capsule was measured at $\times 20$ and cell counts were performed in randomly chosen $\times 40$ fields; single mean values for capsule thickness (μm) and cell number were obtained for each animal. The capsule was assessed by considering the neoformed tissue immediately below the subcutaneous level, as shown in Figure 1.

Statistical comparisons between groups were performed using Mann-Whitney tests. Two-tailed p values lower than 0.05 were considered statistically significant. All analyses were carried out with SPSS 10.1 software (SPSS Inc., Chicago, Ill.).

RESULTS

We did not observe histological differences between tissues from control rats and those from placebo rats in either the histopathologic examination or the histomorphometric measurements. Both groups showed the histological structure of normal rat skin (Fig. 2) at all evaluation periods.

Histopathologic Examination

Week 1

In rats with implants, an acute inflammatory response was observed after 1 week, with infiltration of polymorphonuclear leukocytes that adhered to the implant surface and entered into the product. This infiltration was more marked in the polyacrylamide implants, in which macrophages were also observed. A single layer of fibroblasts was observed at the onset of capsule formation around both types of implant (Fig. 3).

Months 1 and 4

Both types of product were surrounded by a fibrous capsule (Figs. 4 and 5). The hyaluronic

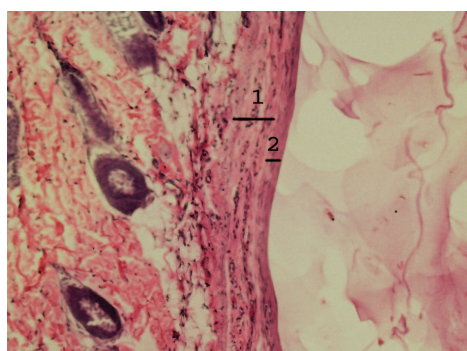


Fig. 1. Measurement of capsule: 1, subcutaneous tissue; 2, capsule formed beneath subcutis (hematoxylin and eosin, $\times 75$).

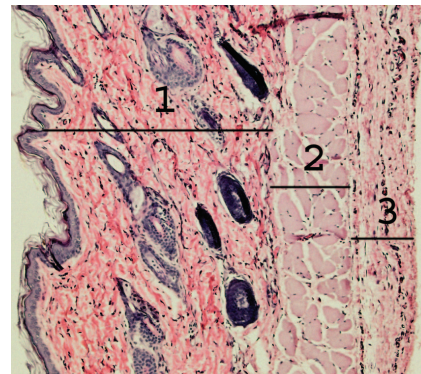


Fig. 2. Rat skin histology: 1, epidermis and dermis; 2, musculo-cutaneous layer; 3, subcutis (hematoxylin and eosin, $\times 60$).

acid implants showed a uniform capsule consisting of three to four layers of fibroblasts among dense collagen fibers. The polyacrylamide gel implants showed a thicker capsule, consisting of five to six layers of fibroblasts and less dense collagen. Cell infiltration was minimal in the hyaluronic acid implants, with predominance of polymorphonuclear leukocytes. The polyacrylamide gel implants showed higher cell density inside the implant, with predominance of macrophages/histiocytes and polymorphonuclear leukocytes. At 1 month, immature fibroblasts had migrated into the polyacrylamide gel implants, forming a layered matrix of fibrous tissue and collagen. At 4 months, fibrous bands were seen extending into the implant as finger-like projections from the surrounding tissue. We also observed nodular formations inside polyacrylamide implants, with higher levels of surrounding collagen, which we consider to be due to transverse sectioning of the fibrous bands described previously.

Month 8

The fibrous capsule around hyaluronic acid implants remained at about the same thickness, and there was minimal cellular infiltration into the implant (Fig. 6). Eosinophilic patches were observed, probably due to product condensation. The polyacrylamide gel implants showed fibrous invasion without a measurable surrounding capsule (Fig. 6). Cell infiltration persisted with macrophages and fibroblasts. No giant cells were observed. Frequent fibrous nodules surrounded by dense connective tissue were seen splitting up the product (Fig. 7) (Table 1).

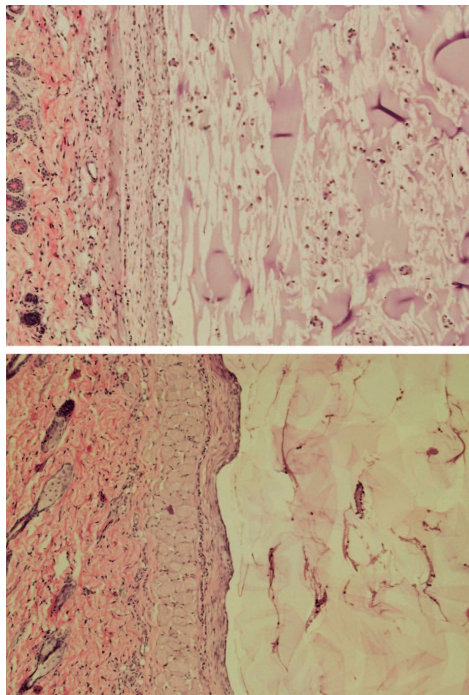


Fig. 3. (Above) Polyacrylamide gel implant 1 week after injection, showing cell infiltration inside the implant and the presence of macrophages and neutrophils. There is no capsule formation (hematoxylin and eosin, $\times 70$). (Below) Hyaluronic acid gel implant 1 week after injection, showing minimal cell infiltration inside the implant. There is no capsule formation (hematoxylin and eosin, $\times 60$).

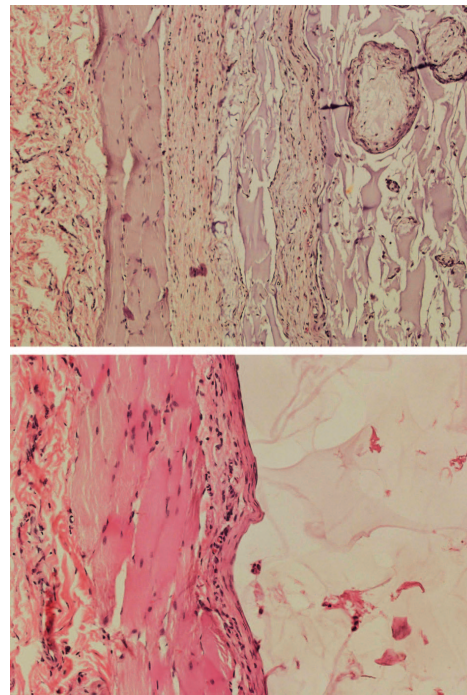


Fig. 4. (Above) Polyacrylamide gel implant 1 month after injection, showing fibrous bands and nodules inside the implant and infiltration of fibroblasts and macrophages (hematoxylin and eosin, $\times 55$). (Below) Hyaluronic acid gel implant 1 month after injection, showing capsule consisting of three to four layers of dense collagen (hematoxylin and eosin, $\times 55$).

Histomorphometric Evaluation

Evaluation and assessment of the biological behavior of the implant materials included measurement of capsule thickness and counting of mononuclear cells inside the implant.

Capsule formation was assessed only after 1 month. The fibrous tissue surrounding the hyaluronic acid implants did not show significant variation in thickness over time. In contrast, the fibrous tissue surrounding the polyacrylamide gel implants showed a significant increase in thickness between 1 month and 4 months, and no defined capsule was observed after 8 months, as a result of fibrous invasion. Capsule thickness differed significantly between the two experimental groups at all survival times ($p < 0.05$). Cell density within implants likewise differed significantly between

the two experimental groups at all survival times ($p < 0.05$) (Fig. 8): hyaluronic acid implants showed more or less constant cell density over time, whereas polyacrylamide implants showed progressively increasing cell density (Table 2).

DISCUSSION

Biocompatibility is, of course, a key characteristic for products to be used as dermal filler materials.⁴ Biocompatibility has classically been defined as the absence or near absence of tissue responses to the implant material.¹⁷ In fact, this definition is unhelpful. Clearly, undesirable tissue responses should be absent or minimal, but some types of tissue response may be desirable.¹⁸ Depending on the specific context, for example, tissue integration of a grafted material may be a desired response. In any case, adequate histologic

Volume 117, Number 6 • Hyaluronic Acid and Polyacrylamide Fillers

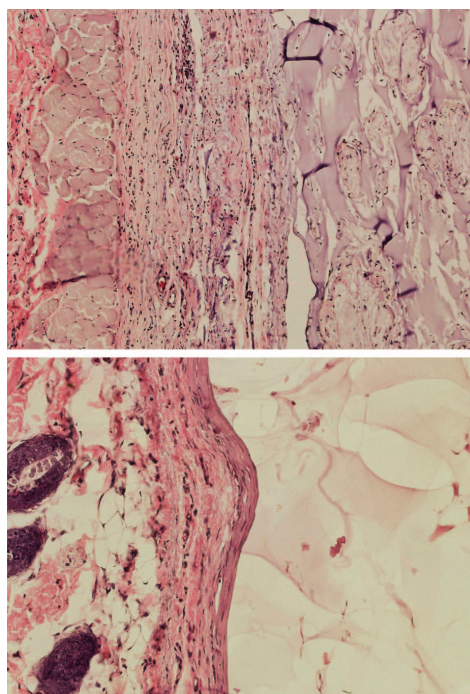


Fig. 5. (Above) Polyacrylamide gel implant 4 months after injection, showing capsule beneath the subcutis with several layers of collagen as well as dense cellular infiltration and fibrous formations (hematoxylin and eosin, $\times 125$). (Below) Hyaluronic acid gel implant 4 months after injection, showing minimal cell infiltration (hematoxylin and eosin, $\times 110$).

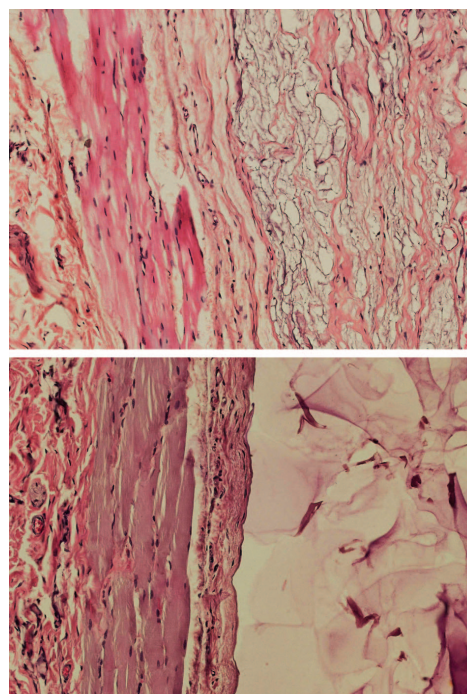


Fig. 6. (Above) Polyacrylamide gel implant 8 months after injection, showing the absence of a clearly defined capsule, fibrous invasion with mature collagen, and a predominance of macrophages and histiocytes (hematoxylin and eosin, $\times 110$). (Below) Hyaluronic acid gel implants 8 months after injection, showing a thin capsule and the absence of a chronic inflammatory reaction (hematoxylin and eosin, $\times 120$).

evaluation is a prerequisite for assessing tissue responses to implant materials.

This study compared tissue reactions to a polyacrylamide gel dermal filler (Aquamid) and a hyaluronic acid gel dermal filler (Restylane Perlane), both of which are currently available for clinical use. Both fillers are considered to be biocompatible, but they show very different tissue reaction patterns. To date, there have been few reports in peer-reviewed journals on the histological responses to these fillers.

Polyacrylamide gels have been widely used in Eastern Europe and China over the last decade as implants for breast augmentation. Long-term follow-up has reported the presence of breast induration and lumps.¹⁵ Some authors have reported that polyacrylamide gels are stable over time and that implants split connective tissue fibers, taking

the place of extracellular matrix. These authors consider polyacrylamide gel implants to be basically well tolerated, despite the adverse events observed.¹⁵ Other authors have reported several complications and believe these products should only be used after strict patient selection.¹⁰ The polyacrylamide gel evaluated in the present study, Aquamid, showed a high bioactivity. Implants induced cellular involvement, thus encouraging integration in the tissue. Such tissue ingrowth would make this product difficult to remove if that were to become necessary. After 8 months, the gel was invaded by the surrounding tissue, which split up the implant. When the gel has been used in very small amounts, resorption has been reported in less than 9 months.¹⁹ Within implants, we observed the presence of macrophages with vacuolated cy-

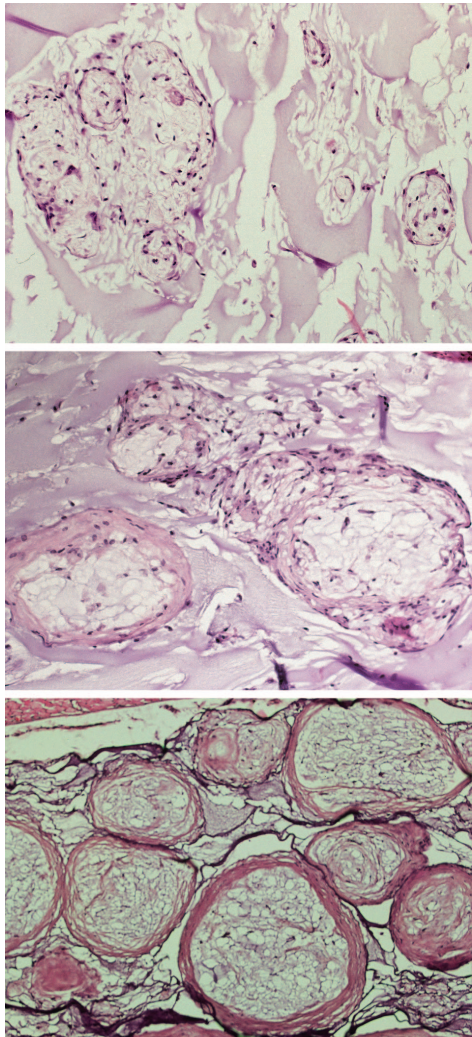


Fig. 7. (Above, center, and below) Development of fibrous nodules inside the polyacrylamide gel implants over time: transverse sections show fibrous bands inside the implant [hematoxylin and eosin, (above) $\times 95$, (center) $\times 75$, (below) $\times 45$].

toplasm, which indicates that some of the filler was biodegraded. The remaining implant was assessed after 8 months, but by this time a significant amount had been replaced by connective tissue in the form of fibrous strands and nodules. Recent studies of this product for lip filling, with evalua-

Table 1. Histopathological Results for Polyacrylamide Gel and Hyaluronic Acid Implants

	Capsule Layers		Inflammatory Cells		Implant Histology	
	Hyaluronic Acid Gel	Polyacrylamide Gel	Hyaluronic Acid Gel	Polyacrylamide Gel	Hyaluronic Acid Gel	Polyacrylamide Gel
Week 1	—*	—*	PMN	PMN/macrophages	Cell infiltration	Cell infiltration
Month 1	1	<5	PMN	PMN/macrophages	Cell infiltration	Fibroblast invasion
Month 4	<5	>5	—	Macrophages/fibroblasts	Eosinophilic patches	Fibrous bands/nodules
Month 8	<5	†	—	Macrophages/fibroblasts	Eosinophilic patches	Fibrous bands/nodules

*No capsule formed after 1 week.

†No clearly defined capsule.

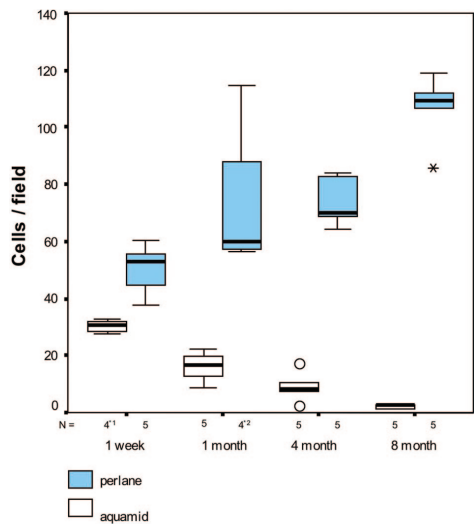


Fig. 8. Cell counts inside the polyacrylamide gel implants and the hyaluronic acid implants showed divergent time courses of the evaluated fillers: the polyacrylamide gel implants showed increasing cell density over time, whereas in the hyaluronic acid gel implants, cell density remained approximately constant. The horizontal line inside the box represents the median. The lower end of the box is the 25th percentile and the upper end is the 75th percentile.

tion at 9 months after implantation, show good results when it is used in small amounts.¹⁶ Restylane Perlane is a nonanimal, stabilized hyaluronic acid gel. Secondary effects reported in clinical practice with similar fillers include intermittent acute inflammatory events, most frequently in the first few weeks after implantation^{6,12} and occasionally up to 8 to 11 weeks after

implantation.^{7,9} Nodules caused by late inflammatory reactions are less frequent.¹¹ These adverse events have been associated with the presence of protein components in the product.²⁰ It has previously been suggested that hyaluronic acid implants have a limited duration in time.¹⁴ The present study indicates that there was minimal cell infiltration into the implant; connective tissue formation inside the product was not observed, a thin capsule was formed around the implant, and the implants remained basically unchanged 8 months after implantation. Thus, our results suggest that implants of this product are basically stable over time.

CONCLUSIONS

Neither the polyacrylamide gel nor the hyaluronic acid filler we evaluated underwent tissue migration. Both implant types remained identifiable after 8 months. We found no histopathological indications of necrosis, calcification, tumorigenesis, or infection at the implant sites over the 8-month evaluation periods, which indicates that both products can be considered biocompatible. Polyacrylamide gel fillers are bioactive polymers that integrate with tissues. These implants induced a prolonged inflammatory reaction and showed some biodegradation. These modifications would make it difficult to remove the implant if that became necessary. Further research is needed to assess whether the induration and granuloma formation observed with polyacrylamide gel products are clinically important. The hyaluronic acid filler induced a less marked inflammatory reaction, was stable over time, and did not undergo biodegradation. Removal from tissues should be possible. Improved knowledge of its durability and adverse effects are

Table 2. Cell Counts and Capsule Thicknesses for Polyacrylamide Gel and Hyaluronic Acid Implants

	Hyaluronic Acid Gel	Polyacrylamide Gel	p
Cells/field			
Week 1	30 (27–33)	53 (37–60)	0.014
Month 1	16 (8–22)	59 (56–114)	0.020
Month 4	8 (2–17)	69 (64–83)	0.009
Month 8	2 (1–2)	109 (85–119)	0.008
Capsule thickness, μ m			
Week 1	—*	—*	—
Month 1	15 (12–16)	33 (29–51)	0.021
Month 4	10 (10–12)	77 (43–104)	0.009
Month 8	10 (9–13)	—†	—

Results are expressed as medians (minimum-maximum).
*No capsule formed after 1 week.
†No clearly defined capsule.

necessary, however, to assess the long-term safety and efficacy of this product.

Sergio Fernández-Cossío, M.D.
Clínica de Cirugía Estética
Fernández y Fernández-Cossío Uría
40-3°A 33003-Oviedo, Asturias, Spain
scossio@arrakis.es

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Prof. Tomás García Caballero, from the Department of Morphological Sciences, Santiago de Compostela Medical School, and Francisco Gude Sampedro, from the Department of Statistics, Santiago de Compostela University Hospital, for their technical assistance.

REFERENCES

- Pollack, S. Some new injectable dermal filler materials: Hyalafilm, Restylane, and Artecoll. *J. Cutan. Med. Surg.* 4: 27, 1999.
- Alster, T. S., and West, T. B. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: Current status and role in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 105: 2515, 2000.
- Pacini, S., Ruggiero, M., Cammarota, N., Protopapa, C., and Gulisano, P. Bio-Alcamid: A novelty for reconstructive and cosmetic surgery. *Ital. J. Anat. Embryol.* 107: 209, 2003.
- Jansen, J. A., Dhert, W. J., Van der Waerden, J. P., and Von Recum, A. F. Semi-quantitative and qualitative histologic analysis method for the evaluation of implant biocompatibility. *J. Inv. Surg.* 7: 123, 1994.
- Morhenn, D. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol. Surg.* 28: 484, 2002.
- Duranti, F., Salti, G., Bovani, B., Calandra, M., and Rosati, M. L. Injectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation: A clinical and histological study. *Dermatol. Surg.* 24: 1317, 1998.
- Lemperle, G., Morhenn, V., and Charrier, U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* 27: 354, 2003.
- Micheels, P. Human anti-hyaluronic acid antibodies: Is it possible? *Dermatol. Surg.* 27: 185, 2001.
- Pacini, S., Ruggiero, M., Cammarota, N., Protopapa, C., and Gulisano, M. Bio-Alcamid, a novel prosthetic polymer, does not interfere with morphological and functional characteristics of human skin fibroblasts. *Plast. Reconstr. Surg.* 111: 489, 2003.
- Cheng, N. X., Wang, Y. L., Wang, J. H., Zhang, X. M., and Zhong, H. Complications of breast augmentation with injected hydrophilic polyacrylamide gel. *Aesthetic Plast. Surg.* 26: 375, 2002.
- Lowe, N. J., Maxwell, C. A., Lowe, P., Duick, M. G., and Shah, K. Hyaluronic acid skin fillers: Adverse reactions and skin testing. *J. Am. Acad. Dermatol.* 45: 930, 2001.
- Niechajev, I. Lip enhancement: Surgical alternatives and histologic aspects. *Plast. Reconstr. Surg.* 105: 1173, 2000.
- Shafir, R. Long-term complications of facial injections with Restylane (injectable hyaluronic acid). *Plast. Reconstr. Surg.* 106: 1215, 2000.
- Bergueret-Galley, C. Comparison of resorbable soft tissue fillers. *Aesthetic Surg. J.* 24: 33, 2004.
- Christensen, L. H., Breiting, V. B., Aasted, A., Jorgensen, A., and Kebuladze, I. Long-term effects of polyacrylamide hydrogel on human breast tissue. *Plast. Reconstr. Surg.* 111: 1883, 2003.
- de Cassia Novaes, W., and Berg, A. Experiences with a new nonbiodegradable hydrogel (Aquamid): A pilot study. *Aesthetic Plast. Surg.* 27: 376, 2003.
- Butler, K., Bengehuzzi, H., Bajpai, P., et al. One year histopathological evaluation of fibrous tissue surrounding TCPL implants using adult rats as a model. *Biomed. Sci. Instrum.* 33: 233, 1997.
- Jeyanthi, R., and Panduranga, K. In vivo biocompatibility of collagen-poly (hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials* 11: 238, 1990.
- Lemperle, G. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* 27: 354, 2003.
- Manna, F., Dentini, M., Desideri, P., De Pita O., Mortilla, E., and Maras, B. Comparative chemical evaluation of two commercially available derivatives of hyaluronic acid (Hyalafilm from rooster combs and Restylane from *Streptococcus*) used for soft tissue augmentation. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 13: 183, 1999.

Plastic and Reconstructive Surgery • May 2006

TRABAJO NÚMERO 2

**“Biocompatibility of Agarose Gel as a Dermal Filler: Histological
Evaluation of Subcutaneous Implants”**

Pte. de publicación en Plastic and Reconstructive Surgery

ISSN 0032-1052/ Factor de impacto: 1,692

RE: PRS-D-06-00119, entitled "Biocompatibility of Agarose Gel as a Dermal Filler: Histological Evaluation of Subcutaneous Implants"

Dear Mr. Fernández-Cossío,

I have received the comments of the reviewers on your manuscript; a copy is included below. The reviewers believe that your studies are of potential interest to our readers but feel that substantial revision would be necessary before the paper could be considered again for publication in the Plastic and Reconstructive Surgery.

If you are willing to revise the manuscript, taking into consideration the suggestions of the reviewers, I may send the revised paper to the original reviewers for their appraisal. Your revision will be re-evaluated, and acceptance of your revised paper is subject to approval by the review panel and Editor-in-Chief.

PLEASE INCLUDE WITH YOUR REVISED SUBMISSION AN ITEMIZED, POINT-BY-POINT RESPONSE TO THE COMMENTS OF THE REVIEWERS. IN THE TEXT OF THE PAPER, PLEASE INDICATE WHERE YOU HAVE MADE REVISIONS BY USING RED TEXT OR IT WILL BE RETURNED TO YOU.

To save space and to improve readability, we are requiring that every article that needs an abstract have a STRUCTURED ABSTRACT. THE LENGTH SHOULD BE NO MORE THAN 250 WORDS AND SHOULD INCLUDE THE FOLLOWING HEADINGS: BACKGROUND, METHODS, RESULTS, AND CONCLUSIONS.

The revisions should be completed within the NEXT NINETY DAYS to avoid being considered as a new submission. If you are unable to revise the paper within this time frame, please contact the Editorial Office.

We look forward to receiving your revised paper.

With Kind Regards,

Rod J. Rohrich, M.D.
Editor-in-Chief
Plastic and Reconstructive Surgery

Reviewer Comments:

Reviewer #1: MANUSCRIPT NUMBER 06-00119
BIostatistical REVIEW

In this manuscript the authors report on the results of an experiment performed to test the biocompatibility of Agarose Gel Nusieve 3:1 as a dermal filler in male Sprague Dawley rats. The rats were assigned to one of four groups of n=24 each: Group 1 rats received agarose gel implants, Group 2 rats had Zyderm 1 (collagen) implant, Group 3

rats were injected with physiological serum and Group 4 rats were untreated controls. Outcomes were measured at one week, one month, four months and eight months (six rats per time period). After sacrifice both the implant and the surrounding tissue were excised. Tissue reactivity to the implants was assessed by qualitatively and quantitative histological evaluation. The authors describe what histology analyses were done. Seven stained sections were analyzed per rat and means values for subcutaneous thickness and cell number were obtained for each rat. Medians and ranges are used to express the results. The Mann-Whitney test with the Bonferroni correction factor was used to correct for multiple testing. The statistical analysis used appears to be appropriate. Some users perform the Kruskal-Wallis test prior to doing the Mann-Whitney test but with only two or three groups being compared it is not needed. The results are given in the text, figures and tables. The cell counts were higher for Agarose than collagen but they decrease at 8 months and the thickness is also higher after one week. In the discussion section, the authors describe the properties of agarose gel and Zyderm 1 including results from the literature. The authors conclude that agarose gel can be considered biocompatible. They note that further research is needed using other agar derivatives at different concentration levels to determine the best candidate product and to assess the long term efficacy and safety. The manuscript is clearly written. Specific comments include

1. In the legend for Figure 12, the authors should briefly mention what the upper and lower edges of the box display and what the line within the box displays since different statistical packages offer different options for box plots even though medians and quartiles are most common. It looks like the thickness varies more in the Agarose group.
2. In the legend for Table II, the authors should mention the sample sizes by time intervals and treatment groups. The same comment applies to Table III.

Reviewer #2: Please, explain the meaning of "Nusieve 3:1" and check all references, whether they fit (# 9 in the last sentence of Discussion, for instance) !? The only advantage of Argarose over bovine collagen appears to be a possible longer persistence and possibly less antigenicity. You are aware of Knapp's first publication on bovine collagen beneath forehead skin of a rat, where it lasted for about 2 years. Everybody knows today that bovine collagen in human skin lasts for about 3-6 months, only. This should be one sentence in the Discussion.

Reviewer #3: The article entitled BIOCOMPATIBILITY OF AGAROSE GEL AS A DERMAL FILLER: HISTOLOGICAL EVALUATION OF SUBCUTANEOUS IMPLANTS

by Fernandez and coworkers is a very well done scientific study comparing a potentially new filler Agarose Gel to collagen. The study is primarily a histopathologic study that analyzes tissue interactions of Agarose Gel. The study is carried out in mice. The Agarose Gel is evaluated up to 8 months and shows some degree of persistence at least under the microscope. It compares very favorably to collagen and at 8 months the

Agarose could still be detected in greater amounts than collagen. The Agarose Gel at 8 months was "easily identified" as subcutaneous lumps of soft consistency. Dense cellular infiltration with predominance of histiocytes and fibroblasts, and giant cells

were seen under the microscope. Mature collagen bands were seen inside Agarose implants without fibrous nodule formation. The implant site was vascularized by a small number of blood vessels and no defined capsule could be identified.

My main concerns with this manuscript are related to the relevancy of the Agarose Gel. I think the authors need to state in the first sentence of the manuscript why this gel may be superior to certain pre-existing fillers and what they speculate its duration of effect might be. Basically, these are the reasons to study this agent and they need to be mentioned from the outset and again in the discussion to point out the clinical significance of this new filler.

My other comments relates to the choice of collagen as a comparison. I think most studies have used collagen so this is a natural choice, but increasingly collagen is disappearing from clinical practice and perhaps, restylane, might be another variable.

If the readership would benefits from an early stage study in animals regarding another filler on the horizon, this article should be published. I do think the clinical relevance of Agarose Gel and it's potential place among the many fillers should be more strongly stated.

Reviewer: Well written and histologically documented simple experiment on a possible new dermal filler. There are many similar polymers, which all cause more foreign body reaction than collagen. The question whether Argarose lasts significantly longer and will be less antigenic in humans, has not been answered. I doubt it. On the other hand, it is the first time that Argarose is suggested as a potential dermal filler substance : this may be worthwhile to be published.

Date: 03-23-2006

To: "Sergio Fernández-Cossío" scossio@arrakis.es

From: "Plastic and Reconstructive Surgery" PRS@Plasticsurgery.org

Subject: PRS Decision

RE: PRS-D-06-00119R1, entitled "Biocompatibility of Agarose Gel as a Dermal Filler: Histological Evaluation of Subcutaneous Implants"

Dear Mr. Fernández-Cossío,

I am pleased to inform you that your work has now been accepted for publication in Plastic and Reconstructive Surgery. Congratulations! All manuscript materials will be forwarded immediately to the production staff for placement in an upcoming issue. The Editorial Office will inform you of the publication date once your manuscript has been assigned to a specific issue.

Acceptance for publication is made with the understanding that the material in your submission has not been previously published and will not be submitted for publication elsewhere before it appears in the journal.

There should be no announcements or news releases about your article until the day before the date of publication.

If you have not already done so, please inform us immediately if you or any co-authors have any financial relationships with any company whose products are mentioned in your article or a company making a competing product.

Although your manuscript has been accepted by the editor, it is still subject to further review for content in terms of LEGAL and BIOSTATISTICAL ISSUES and may be altered before publication. You will be notified if your accepted manuscript must be revised further.

To save space and to improve readability, we are requiring that every article that needs an abstract have a STRUCTURED ABSTRACT. THE LENGTH SHOULD BE NO MORE THAN 250 WORDS AND SHOULD INCLUDE THE FOLLOWING HEADINGS: BACKGROUND, METHODS, RESULTS, AND CONCLUSIONS.

If you have not already done so, please have each author sign and return the copyright release form.

If you have any questions or concerns about these guidelines, please do not hesitate to contact my editorial office at 214-645-7790.

Thank you for submitting your interesting and important work to the journal. We look forward to receiving more manuscripts from you in the future.

With Kind Regards,

Rod J. Rohrich, M.D.

Editor-in-Chief

Plastic and Reconstructive Surgery

Biocompatibility of Agarose Gel as a Dermal Filler: Histological Evaluation of Subcutaneous Implants

- 1- Sergio Fernández-Cossío, M.D.
- 2- Alvaro León-Mateos, M.D.
- 3- Francisco Gude Sampedro, M.D., Ph.D.
- 4- María Teresa Castaño Oreja, M.D., Ph.D.

- 1- Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Clinical University Hospital, Santiago de Compostela.
- 2- Department of Experimental Dermatology, Santiago de Compostela University, Medical School.
- 3- Department of Clinical Epidemiology, Clinical University Hospital, Santiago de Compostela.
- 4- Department of Morphological Sciences, Santiago de Compostela University, Medical School.

Corresponding author:

Sergio Fernández-Cossío, M.D.
Departamento de Ciencias Morfológicas
Facultad de Medicina y Odontología
San Francisco s/n
15782 Santiago de Compostela
A Coruña, Spain
Tel: 34-81-582585
E-mail: scossio@arrakis.es

FINANCIAL DISCLOSURE:

There are no commercial associations that might pose or create a conflict of interests with information presented in this manuscript. All financial support for this work was from research funds of the University of Santiago de Compostela. As stated in the consent form submitted, there is no financial interest in the subject matter of this manuscript.

PRODUCTS:

Zyderm 1[®] supplied by Inamed Corp, Arklow, County Wicklow, Ireland.

Agarose Nusieve 3:1[®] supplied by Cambrex Bio Science Rockland Inc,
Rockland, Maine, USA.

ABSTRACT

Background: The search for safe and effective tissue fillers has been an ongoing effort in plastic and cosmetic surgery over recent decades. Biocompatibility is a prerequisite for any substance to be used as an implant material, and potential biomaterials need to be characterized by histological evaluation of tissue responses. Collagen is a well-known tissue filler. Agarose gel is widely used in bioengineering. Both products are considered biocompatible.

Methods: The purpose of this study was to evaluate the bioactivity of agarose gel as a dermal filler compared to collagen. To this end, tissue responses to both substances were evaluated in a rat *in vivo* model (n=96). Four groups were evaluated: group 1 (n=24) of rats with agarose gel implants, group 2 (n=24) of rats with collagen implants, a placebo group 3 (n=24) and a control group 4 (n=24). Responses and biocompatibility were assessed by histopathologic and histomorphometric evaluation at between 1 week and 8 months post-implantation.

Results: Agarose gel showed marked bioactivity and biodegradation, though the implants integrated well into tissues: newly formed collagen bands were observed inside the implants and no granulomas were detected. Collagen implants showed low cell infiltration and a significant loss of product over time.

Conclusions: Agarose gel is a biocompatible product that can be considered for use as a tissue filler. Further investigation is required to assess its long-term efficacy and safety.

INTRODUCTION

For over a century, the search for the ideal tissue filler suitable for the correction of body contour defects has focused many research studies in plastic and cosmetic surgery. In recent decades many substances have been approved for use as tissue fillers but none can be considered ideal. The ideal filler should be safe and effective; it should be biocompatible, nonimmunogenic, easily obtainable, nonreabsorbable, low-cost and easily stored;¹ it should look and feel natural;² and it should be easily removed if necessary.³

The biocompatibility of a potential dermal filler is determined by host tissue responses.⁴ Interaction of implanted materials with cells leads to responses that may compromise the long-term efficiency and safety of the implant.⁵ Tissue reactions are extremely variable and depend on the nature of the material implanted and on individual susceptibility. Sometimes, tissue response induces degradation or even total disappearance of the implanted product.^{6,7} In other cases, the filler is replaced by newly formed collagen.^{8,9} Finally, some permanent products induce the formation of nodules and indurations^{10,11} due to a chronic inflammatory reaction with the presence of foreign-body granulomas, giant cells and fibrosis.^{12,13}

In vivo experimental analysis of tissue reactions to different substances is a valuable tool for determining the safety and efficacy of a potential tissue filler.^{14,15, 16,17} In general, synthetic products are permanent while organic fillers have a limited lifespan. Zyderm 1 is a well-known tissue filler that is considered biocompatible and that is regarded as the gold standard for all other newly introduced injectable or implantable fillers.^{18,19} Agarose is also considered a biocompatible material,^{20,21} and is frequently used in the laboratory for PCR and for analytical electrophoresis of DNA and RNA fragments. Other products used as support matrixes for such procedures, like polyacrylamide gels, are currently being used as dermal fillers in cosmetic surgery.^{3,5,9}

The aim of the present study was to evaluate the bioactivity of an agarose gel compared to that of a collagen implant material (Zyderm 1), in order to evaluate the possible application of agarose as a dermal filler in reconstructive or cosmetic surgery. To this end, histological effects of subcutaneous implants in rats were evaluated after survival periods of one week to eight months.

MATERIALS AND METHODS

Products

Zyderm 1[®] was supplied by Inamed Corp, Arklow, County Wicklow, Ireland. Agarose NuSieve[®] 3:1 agarose was supplied by Cambrex Bio Science Rockland Inc, Rockland, Maine, USA.

Zyderm 1, is a sterile suspension of highly purified bovine collagen (35 mg/ml) in phosphate-buffered physiological saline. It contains 0.3% lidocaine. Zyderm was approved for use by the FDA in 1981. Since then, hundreds of thousands of patients have received collagen implants worldwide.²² Collagen is the major structural protein in the extracellular matrix and consists of polypeptide chains wound together on a triple helix. Collagen molecules are very similar between different species, but at their amino-terminal end they bear variable non-helical structures, known as telopeptides,²³ that include several dominant immunogens.²⁴ Enzymatic hydrolysis of the telopeptide portions reduces the immunogenicity of the solubilized collagen.²⁵ Skin testing is required prior to injection.

Nusieve 3:1 agarose is a standard-melting-temperature agarose that consists of a blend of 3 parts NuSieve agarose and 1 part SeaKem B agarose (both from Cambrex Bio Science Rockland Inc, Rockland, Maine, USA).

Agarose is a purified linear galactan hydrocolloid isolated from agar or agar-bearing marine algae (class Rhodophyceae). Agar can be divided into two principal components, agarose and agarpectin: agarose is the gelling agent, while agarpectin has low gelling ability. Structurally, agarose is a linear polymer consisting of alternating D-galactose and 3,6-anhydro-L-galactose units. Agarose is considered to be biocompatible^{20,21} and nontoxic.²⁶ The Material Safety Data Sheet for the agarose used in the present study (NuSieve 3:1) states that this product has not been classified as hazardous or toxic by US regulations (SARA 302, 311/312, 313), and does not meet the dangerous preparation classification criteria under 1999/45/EC. It is a stable product and is not carcinogenic. For the present study, a 1.5% agarose gel was prepared following the manufacturer's instructions under sterile conditions. The result was a transparent, homogeneous gel, stable at room temperature and easily injectable with a 27 G needle.

Animals

A total of 96 male Sprague Dawley rats weighing 250-300 grams were used in the experiments. They were randomly divided into groups of 24 rats each: an experimental group 1 of rats with agarose gel implants, an experimental group 2 of rats with Zyderm 1 implants, a placebo group 3 of rats injected with physiological serum, and a control group 4 of untreated rats.

Procedure

Before surgery, rats were anaesthetized by intraperitoneal injection of 100 mg/kg of 5% sodium pentothal. Povidone-iodine solution was used to prepare the surgical site, and 0.10 ml of each product or physiological serum was then injected just below the subcutaneous level in the interauricular region. To ensure that the implant was at the correct depth, a pinch of skin was lifted, the needle was inserted at the base of the crease created, and the skin was released before injection of the product. Animals were maintained under a 12-hour day/night cycle, and fed a standard feed with water *ad libitum*. At the end of each experimental period (1 week, 1 month, 4 months or 8 months), 6 rats per group were sacrificed by anaesthetic overdose. Animal management was in accordance with the principles of the International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) and Directive 86/609/EEC on the Protection of Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes.

Histology and statistical analysis

After sacrifice, both the implant and the surrounding tissues were excised, fixed in 10% buffered formalin, embedded in Paraplast Plus® (Sherwood Medical Co., St. Louis, Mo., USA), sectioned at 6 μ m, and stained with haematoxylin and eosin. Tissue reactivity to implants was assessed by qualitative and quantitative histological evaluation. The qualitative analysis included histopathologic examination of tissue response over time. Migration of the product, stability or degradation of implants, presence of capsule and type of infiltration were examined. The quantitative analysis was based on measurements of capsule thickness (if capsule present), number of vascular openings and counts of mononuclear cells inside the implant. To detect possible modifications in skin structure, subcutaneous thickness was also measured.

Seven stained sections were analysed per rat. The distance between two consecutive sections was at least 180 μ m. Digital photomicrographs were taken using an Olympus

BX40 microscope fitted with a microphotography attachment, and processed with MicroImage image analysis software (MediaCybernetics, Silver Spring, Md., USA). The capsule and subcutaneous tissue were measured at X20 and cell counts were done in randomly chosen X40 fields. The subcutaneous tissue was assessed considering the connective tissue below the epidermis-dermis and musculocutaneous levels, in normal rat skin, as shown in Figure 1.

Single mean values for subcutaneous thickness (μm) and cell number were obtained for each animal. Data are expressed as medians (min - max). The significance of differences in measurements among implants (collagen, agarose and control) was evaluated by the Mann-Whitney test with Bonferroni correction for multiple comparisons. A level of statistical significance of $p < 0.05$ was accepted. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows version 10.0; SPSS Inc., Chicago, Ill., USA).

RESULTS

No histological differences were observed between tissues from control and placebo rats either in histopathologic examination or in histomorphometric measurements. Both groups showed the histological structure of normal rat skin (Fig. 1) in all evaluation periods. In what follows we detail the results obtained in rats that received Zyderm 1 or agarose implants.

Histopathologic examination

One week (Figs. 2 and 3)

Tissues showed an acute inflammatory reaction at the subcutaneous level surrounding the implant, with predominance of polymorphonuclear leukocytes and macrophages; this reaction was more intense around agarose implants. Infiltration of the implant was more marked in the collagen group, with presence of macrophages and fibroblasts; in contrast, few cells were observed inside agarose implants.

One and four months (Figs. 4-7).

The agarose implants showed an increasing degree of cell infiltration and decreasing presence of product over time. The predominant type of infiltration consisted of macrophages and fibroblasts that migrated into the implant and began to form a layered matrix of collagen, more dense at four months. Giant cells were also observed. No

fibrotic nodules or foreign-body granulomas were detected. Vascularization of the implant was also seen.

In contrast, collagen implants did not show significant variations by the end of the four-month period. The product remained as a cohesive, amorphous mass, and only slight cell infiltration was observed. The subcutaneous tissue was increasingly thinner. Giant cells were not present. The implant seemed more condensed, showing more intense eosinophilic staining. Few blood vessels were observed at four months postimplantation.

Neither product was surrounded by a capsule.

Eight months (Figs. 8-11)

Both products remained detectable at eight months postimplantation. The volume of collagen implants had significantly decreased with respect to the original volume.

Macroscopically, collagen implants appeared as thin, white masses. Histopathologic evaluation of collagen implants showed a mild inflammatory reaction, with infiltration of histiocytes and fibroblasts and without giant cells. Newly formed collagen was not seen.

Agarose implants were easily identified as subcutaneous lumps of soft consistency.

Histopathologic evaluation of agarose implants showed dense cellular infiltration with predominance of histiocytes and fibroblasts, and presence of giant cells. Mature collagen bands were seen inside agarose implants without fibrous nodule formation.

The implant site was vascularized by a small number of blood vessels, and no defined capsule was observed around the implant. (TABLE I)

Histomorphometric evaluation

Quantitative assessment of the biological behaviour of the implant materials included counting of mononuclear cells and blood vessels inside the implant and measurement of subcutaneous tissue thickness.

Cell density within implants differed significantly between the two groups at all survival periods. Collagen implants showed low cell counts that remained more or less constant. Agarose implants showed high cell counts at one month that had decreased by eight months. (TABLE II)

Increased vascularization was seen in all agarose-implanted rats after one month, decreasing by eight months. Significant differences in vascularization were observed between the two products at one month and at four months. At eight months both types

of implant showed minimal vascularization, with no significant differences between the two groups. (TABLE II)

Four months post-implantation, skin from all animals in both groups showed significantly thinner subcutaneous tissue than the control group. Subcutaneous tissue was significantly thinner in collagen groups compared to agarose groups at one, four and eight months. (Fig. 12 and TABLE III)

DISCUSSION

Many products are available for soft tissue augmentation. However, adverse events in mid- to long-term follow-ups have been observed with many approved filler substances.^{7,8,9,27,28} These secondary effects are typically due to chronic inflammatory reactions in tissues. Histological evaluation of tissue responses may thus help in predicting the biocompatibility and potential utility of a given substance as a tissue filler.¹³ Histologic monitoring of implant behaviour also provides information about the stability or degradation behavior of the material.⁴ Undesirable tissue responses should be of course absent or minimal, although according to the modern definition of biocompatibility, a biocompatible material need not necessarily be inert, but may be bioactive.²⁹ In fact, replacement by host tissue is considered by some authors as a desired reaction to filler implants.²

This study evaluated tissue reactions to an agarose gel (Nusieve 3:1), compared to reactions to a bovine collagen implant (Zyderm 1). Both substances are considered biocompatible, but while collagen is a well-known tissue filler, as far as we are aware there have been no evaluations to date of the possibility of agarose gel as a dermal filler substance. Agarose is a nontoxic²⁶ polysaccharide derived from agar-containing algae. Agar has been used for a long time in food, as a stabilizer, thickener, humectant, surface finisher or flavouring agent. As a food ingredient, agar meets the specifications of the Food Chemicals Codex.³⁰ Agarose is widely used in the biochemistry laboratory. It has no effects on cell growth or viability,³¹ and shows good haemocompatibility.^{32,33} In view of this, agarose gels in different forms are increasingly being used in bioengineering roles,^{21,26,31,34,35} in gene therapy²⁹ and in extracorporeal detoxification systems.²⁰ In our study the agarose gel tested showed high bioactivity: host tissue ingrowth was observed within implants after one month, and the product was slowly degraded by macrophages. The presence of blood vessels and giant cells indicated the development of a chronic inflammatory reaction. After eight months, mature collagen

strands could be seen splitting up the implant, but nodules and granuloma formation were not observed in contrast with previous studies of gels of similar characteristics that have undergone full clinical evaluation.⁹ Likewise, over the eight-month monitoring period we did not detect any evidence of migration or histopathological indications of necrosis, calcification, tumorigenesis or infection at the implant sites. These findings indicate that agarose gel can be considered as a potential filler for soft tissue augmentation.

Zyderm 1 is a bovine collagen-derived filler. It is the most commonly used injectable filler for soft tissue augmentation³⁶ and indeed is considered a reference filler. The main drawbacks in the use of bovine collagen are the risk of allergic reactions (3 to 5 percent of patients) and the temporary nature of the implant, which requires repeated injections.¹ Early studies found that bovine collagen injected beneath the forehead skin of rats lasted for about 2 years,³⁷ but it is currently well established that bovine collagen lasts for only about 3 to 6 months when injected under human skin¹. Late granuloma formation is an uncommon secondary effect.^{38,39}

In the study, collagen implants showed a mild inflammatory reaction with presence of macrophages and fibroblasts. After eight months only small amounts of the filler were detected, as thin white cohesive masses. This significant loss of volume is probably due to degradation by macrophages and precipitation of collagen fibres at body temperature.⁴⁰ Some previous authors have reported ingrowth of connective tissue into collagen implants and collagen neoformation³⁷ while others have not.¹⁰ In the present study, we did not detect collagen neoformation within Zyderm 1 implants.

CONCLUSIONS

As a subcutaneous implant, agarose gel is a bioactive polymer that induces host tissue ingrowth. We did not detect granuloma formation inside the implants. The agarose gel tested in the present study showed a prolonged inflammatory reaction which declined after eight months. The implants showed some biodegradation by macrophages. Likewise, we saw no histopathological indications of necrosis, calcification, tumorigenesis or infection over the eight-month evaluation period. The gel did not undergo migration in tissues and the implant remained identifiable after eight months. Accordingly, agarose gel can be considered biocompatible. Collagen implants showed a mild inflammatory reaction and a considerable loss of volume after eight months. Both

substances induced subcutaneous tissue atrophy, though this was more marked with collagen implants.

Further research is needed using other agar derivatives at different concentrations in order to identify the best candidate product. Furthermore, improved knowledge of durability and possible adverse effects is necessary to assess the long-term safety and efficacy of agarose and other agar derivatives as implant materials. Evidently, clinical trials would be mandatory before considering the use of these substances as an implant material in humans.

Sergio Fernández- Cossío, M.D.

Clínica de Cirugía Plástica Fernández y Fernández-Cossío

C/ Uría 40, 3ª

33003-OVIEDO

Spain

scossio@arrakis.es

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Prof. Tomás García Caballero, of the Department of Morphological Sciences, Santiago de Compostela Medical School, for technical assistance.

REFERENCES

1. Alster, T. S., West, T. B. Human-derived and new synthetic injectable materials for soft-tissue augmentation: current status and role in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 105: 2515, 2000.
2. Elson, M. L. Soft tissue augmentation. A review. *Dermato. Surg.* 21(6): 491-500, 1995.
3. Pacini, S., Ruggiero, M., Cammarota, N., Protopapa, C., Gulisano, P. Bio-Alcamid: a novelty for reconstructive and cosmetic surgery. *It. J. Anat. Embryol.* 107: 209, 2003.
4. Jansen, J. A., Dhert, W. J., Van der Waerden, J. P., Von Recum, A. F. Semi-quantitative and qualitative histologic analysis method for the evaluation of implant biocompatibility. *JNL. Inv. Surg.* 7: 123, 1994.
5. Pacini, S., Ruggiero, M., Cammarota, N., Protopapa, C., Gulisano, M. Bio-Alcamid, a novel prosthetic polymer, does not interfere with morphological and functional characteristics of human skin fibroblasts. *Plast. Reconstr. Surg.* 111: 489, 2003.
6. Lemperle, G., Morhenn, V., Charrier, U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast. Surg.* 27: 354-366, 2003.
7. Bergueret-Galley, C. Comparison of resorbable soft tissue fillers. *Aesth. Surg. J.* 24: 33, 2004.
8. Lemperle, G., Ott, H., Charrier, U., Hecker, J., Lemperle, M. PMMA microspheres for intradermal implantation: Part I. Animal research. *Ann. Plast. Surg.* 26(1): 57-62, 1991.
9. Christensen, L.H., Breiting, V.B., Aasted, A., Jorgensen, A., Kebuladze, I. Long-term effects of polyacrylamide hydrogel on human breast tissue. *Plast. Reconstr. Surg.* 111: 1883, 2003.
10. Hinderer, U.T., Escalona, J. Dermal and subdermal tissue filling with fetal connective tissue and cartilage, collagen, and silicone: experimental study in the pig compared with clinical results. A new technique of dermis mini-autograft injections. *Aesthetic Plast. Surg.* 14(4): 239-248, 1990.
11. Nosanchuk, J.S. Silicone granuloma in breast. *Arch. Surg.* 97: 583-585, 1968.
12. Lombardi, T., Samson, J., Plantier, F., Husson, C., Kuffer, R. Orofacial granulomas after injection of cosmetic fillers. Histopathologic and clinical study of 11 cases. *J. Oral Pathol. Med.* 33: 115-120, 2004.

13. Milojevic, B. Complications after silicone injection therapy in aesthetic plastic surgery. *Aesthetic Plast. Surg.* 6(4): 203-206, 1982.
14. Kaakedjian, G., Taylor, P. Hair as a filler material for reconstructive or cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 99(2): 443-477, 1997.
15. McPherson, J.M., Ledger, P.W., Sawamura, S., et al.: An examination of the biologic response to injectable, glutaraldehyde cross-linked collagen implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 20: 79, 1986.
16. Burke, K.E., Naughton, G., Waldo, E., Gassai, N. Bovine collagen implant. Histological chronology in pig dermis. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 11: 889, 1983.
17. Fernández-Cossío, S., Castaño, M. Biocompatibility of two novel dermal fillers: histological evaluation of implants of a hyaluronic acid filler and a polyacrylamide filler. "in press" with PRS.
18. Larrabee, W.F., Makielski, K.H. Surgical Anatomy of the Face. *New York, Raven Press*, 1993.
19. Ersek, R.A., Beisang, A.A. Bioplastique: A new textured copolymer microparticle promises permanence in soft-tissue augmentation. *Plast. Reconstr. Surg.* 87: 693-702, 1991.
20. Margel, S., Marcus, L. Specific hemoperfusion through agarose microbeads. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 12(1): 37-66, 1986.
21. Sittinger, M., Perka, C., Schultz, O., Haupl, T., Burmester, GR. Joint cartilage regeneration by tissue engineering. *Z. Rheumatol.* 58(3): 130-135, 1999.
22. Klein, A.W. Collagen substances. *Facial Plast. Surg. Clin. North Am.* 9(2): 205-218, viii, 2001.
23. Castrow, F.F. 2nd, Krull, E.A. Injectable collagen implant-update. *J. Am. Acad. Dermatol.* 9(6): 889-893, 1983.
24. Schmitt, F.O., et al.: The antigenicity of tropocollagen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 51: 493, 1964.
25. Rubin, A.L. et al.: Tropocollagen: significance of portease induced alterations. *Science.* 139: 137, 1963.
26. Tashiro, H., Iwata, H., Warnock, G.L., et al. Characterization and transplantation of agarose microencapsulated canine islets of Langerhans. *Ann. Transplant.* 2(3): 33-39, 1997.
27. Niechajev, I. Lip enhancement: surgical alternatives and histologic aspects. *Plast. Reconstr. Surg.* 105: 1173, 2000.

28. Pollack, S.V. Silicone, fibrel, and collagen implantation for facial lines and wrinkles. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 16(10): 957-961, 1990.
29. Jeyanthi, R., Panduranga, K. In vivo biocompatibility of collagen-poly (hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. *Biomaterials* 11: 238, 1990.
30. Food and Drug Administration § 184.115 Agar-agar. 21 CFR Ch. 1 (4-1-03 Edition).
31. Jiang, M., Rubbi, C.P., Milner, J.O. Gel-based application of siRNA to human epithelial cancer cells induces RNAi-dependent apoptosis. *Oligonucleotides* 14: 239-248, 2004.
32. Harstick, K., Holloway, C.J., Brunner, G., Kulpmann, W.R., Petry, K. The removal of hypnotic drugs from human serum. A comparative investigation of the adsorptive properties of native and agarose-encapsulated resins and charcoal. *Int. J. Artif. Organs.* 2(2): 87-95, 1979.
33. Losgen, H., Brunner, G., Holloway, et al. Large agarose beads for extracorporeal detoxification systems. *Biomater. Med. Devices Artif. Organs.* 6(2): 151-173, 1978.
34. Rotter, N., Aigner, J., Naumann, A., Plank, et al. Cartilage reconstruction in head and neck surgery: comparison of resorbable polymer scaffolds for tissue engineering of human septal cartilage. *J. Biomed. Mater. Res.* 42: 347-356, 1998.
35. Kelly, T.N., Wang, C.C., Mauck, R.L., et al. Role of cell-associated matrix in the development of free-swelling and dynamically loaded chondrocyte-seeded agarose gels. *Biorheology.* 41: 223-237, 2004.
36. Krauss, M.C. Recent advances in soft tissue augmentation. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 18: 119-128, 1999.
37. Knapp, T.R., Luck, E., Daniels, J.R. Behaviour of solubilized collagen as a bioimplant. *J. Surg. Res.* 23: 96-105, 1977.
38. Morhenn, D. Phagocytosis of different particulate dermal filler substances by human macrophages and skin cells. *Dermatol. Surg.* 28: 484, 2002.
39. Stegman, S.J., Chu, S., Armstrong, R.C. Adverse reactions to bovine collagen implant: Clinical and histologic features. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 14 (Suppl 1): 39, 1988.
40. Gross, J., Kirk, B. The heat precipitation of collagen from neutral salt solution: some rate regulating factors. *J. Biol. Chem.* 233: 355, 1958.

FIGURE LEGENDS AND TABLES

Fig. 1. Rat skin histology. 1 - Epidermis and dermis. 2 - Musculocutaneous layer. 3 - Subcutaneous tissue. (Haematoxylin and eosin, X60).

Fig. 2. Agarose gel implant, 1 week after injection, showing acute inflammatory reaction at the subcutis and few cells inside the implant. There is no capsule formation. (Haematoxylin and eosin, X110).

Fig. 3. Collagen implant, 1 week after injection, showing a mild inflammatory reaction at the subcutaneous level and presence of macrophages and fibroblasts inside the implant. (Haematoxylin and eosin, X120).

Fig. 4. Agarose gel implant, 1 month after injection, showing bands of newly formed collagen, and dense cell infiltration consisting of fibroblasts and macrophages. (Haematoxylin and eosin, X95).

Fig. 5. Collagen implant, 1 month after injection, visible as a cohesive mass with slight cell infiltration. (Haematoxylin and eosin, X110).

Fig. 6. Agarose gel implant, 4 months after injection, showing a more dense collagen matrix, with declining amount of agarose. Dense cellular infiltration of macrophages, fibroblasts and giant cells is also observed. (Haematoxylin and eosin, X120).

Fig. 7. Collagen implant, 4 months after injection, showing minimal cell infiltration and a more condensed implant. (Haematoxylin and eosin, X110).

Fig. 8. Agarose implant after eight months. A subcutaneous mass of soft consistency is easily identified in all animals. (*Arrow*).

Fig. 9. Collagen implant after eight months, visible macroscopically as a thin white mass. (*Arrow*).

Fig. 10. Agarose gel implant, 8 months after injection, showing dense collagen bands within the implant, without presence of nodules or granuloma. Histiocytes, fibroblasts and giant cells are observed, but no capsule. (Haematoxylin and eosin, X70).

Fig. 11. Collagen implants, 8 months after injection, showing minimal inflammatory reaction with few histiocytes and fibroblasts, and without giant cells. Host collagen bundles are not observed. (Haematoxylin and eosin, X110).

Fig. 12. Box plot of the distribution of subcutaneous thickness over time: week 1 and months 1,4, and 8, for the collagen, agarose and control groups. The subcutaneous tissue became thinner over time in both experimental groups, but not in the control

group. Plots show median (horizontal line) and 25 th and 75 th percentiles (bottom and top of box).

TABLE I. Histopathological results for the agarose gel implants and the collagen implants implants, showing predominant inflammatory cells, and implant histology.

TABLE II. Quantitative responses over time: cell counts (n) and blood vessels (n) in the agarose gel implants (week 1, n=6; month 1, n=6; month 4, n=6; month 8, n=6) and the collagen implants (week 1, n=6; month 1, n=6; month 4, n=6; month 8, n=6). Results are expressed as medians (min - max).

TABLE III. Quantitative responses over time: subcutaneous thickness (μm) in the collagen (week 1, n=6; month 1, n=6; month 4, n=6; month 8, n=6), agarose (week 1, n=6; month 1, n=6; month 4, n=6; month 8, n=6) and control groups (week 1, n=6; month 1, n=6; month 4, n=6; month 8, n=6). Results are expressed as medians (min - max).

IX. ICONOGRAFÍA

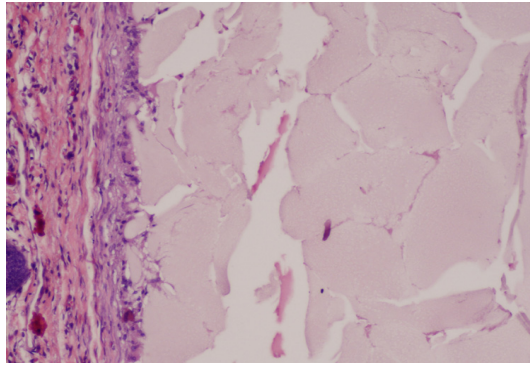


Fig. 9.1.- Agarosa, 1 semana: Se aprecia una reacción inflamatoria aguda a nivel del tejido subcutáneo y escaso número de células dentro del relleno. No hay formación de cápsula. (Hematoxilina-Eosina, X110).

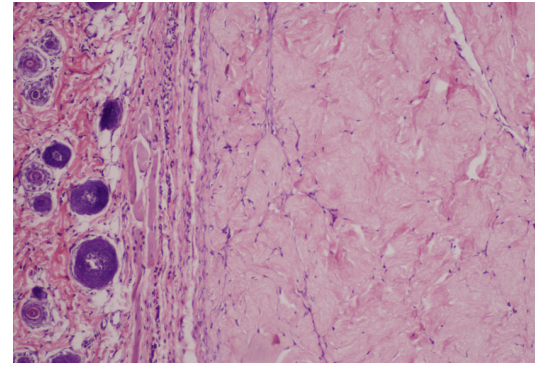


Fig. 9.2.- Colágeno, 1 semana: Existe una reacción inflamatoria moderada a nivel subcutáneo con presencia de macrófagos y fibroblastos dentro del implante. (Hematoxilina-Eosina, X120).

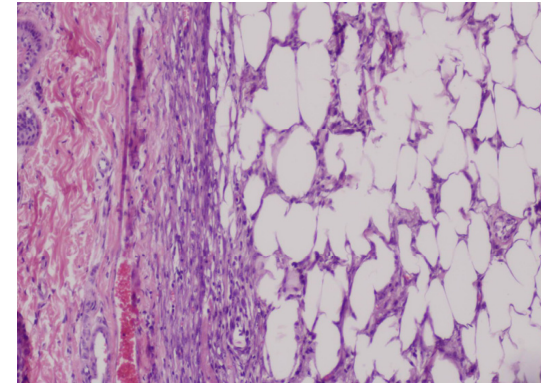


Fig. 9.3.- Grasa, 1 semana: Existe infiltrado inflamatorio más intenso a nivel septal, con algunos focos en la periferia asociado a necrosis del implante. (Hematoxilina-Eosina, X110)

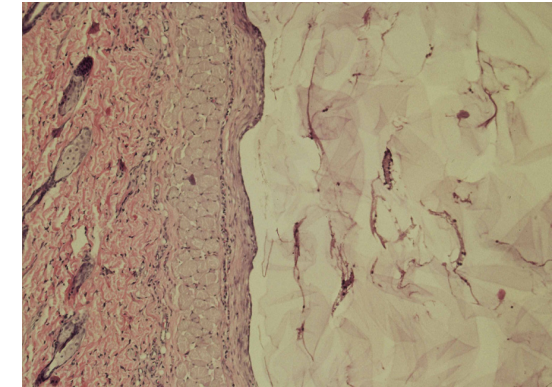


Fig. 9.4.- Perlane, 1 semana: Infiltrado celular mínimo en el interior del implante. No se aprecia la formación de cápsula fibrosa alrededor del implante. (Hematoxilina-Eosina, X60).

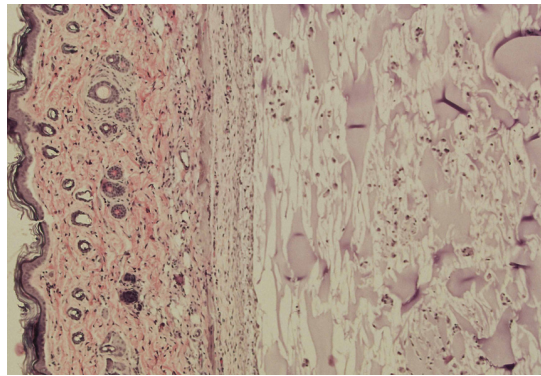


Fig. 9.5.- Aquamid, 1 semana: Se observa un infiltrado celular dentro del implante constituido por macrófagos y neutrófilos. No se evidencia formación de cápsula (Hematoxilina-Eosina, X55).

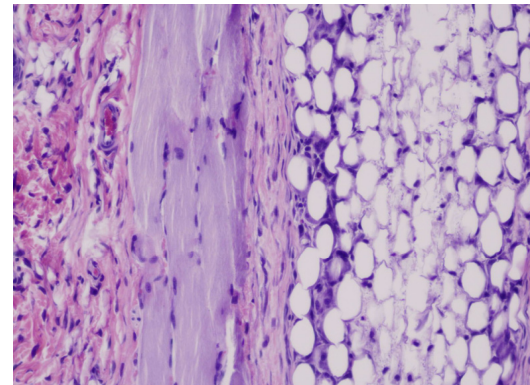


Fig. 9.6.- Artecoll, 1 semana: El implante contiene microesferas con una matriz de colágeno entre ellas, en la que se encuentran macrófagos. No existe fagocitosis de las microesferas. (Hematoxilina-Eosina, X70).

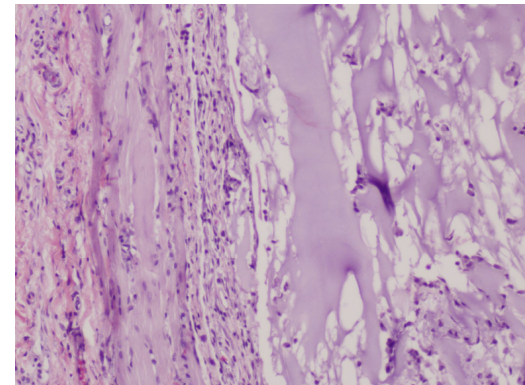


Fig. 9.7.- Bio-Alcamid, 1 semana: Dentro del implante hay escaso infiltrado celular, más intenso en la periferia con aislamiento de fragmentos de producto. Se aprecia un aumento de la celularidad del tejido subcutáneo. (Hematoxilina-Eosina, X55).

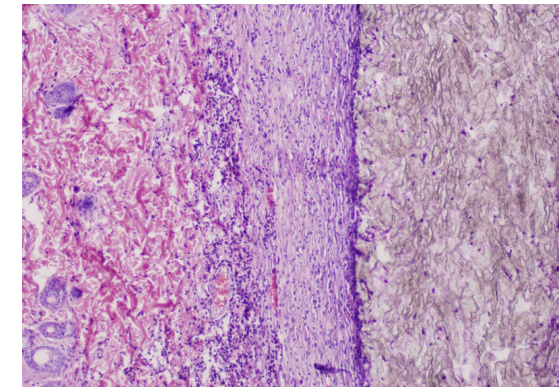


Fig. 9.8.- Gore-Tex, 1 semana: Se evidencia un gran aumento del grosor del tejido celular subcutáneo. Existe infiltración del producto por polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos. (Hematoxilina-Eosina, X60).

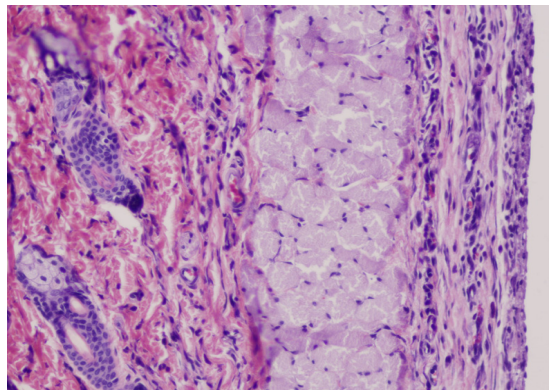


Fig. 9.9.- Silicona, 1 semana: Debido a su pérdida durante el procesado histológico no se evidencia producto. Existe un aumento de la celularidad a nivel del tejido subcutáneo. (Hematoxilina-Eosina, X70).

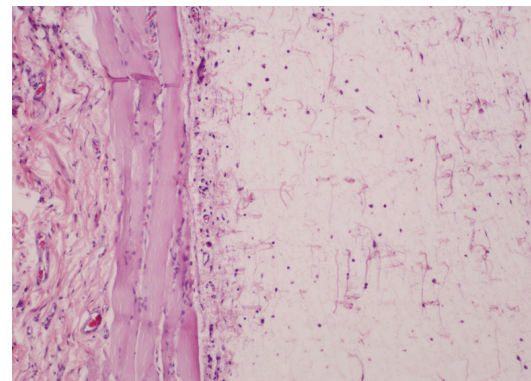


Fig. 9.10.- Hyaluderm, 48 horas: El implante tiene un aspecto laxo y ligeramente eosinofílico, con infiltrado de macrófagos y neutrófilos. Existe infiltrado inflamatorio a nivel del plano muscular. (Hematoxilina-Eosina, X110).

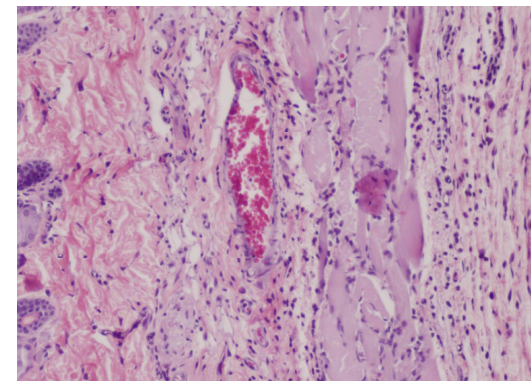


Fig. 9.10 bis.- Hyaluderm, 1 semana: No se identifica la presencia de producto. Se aprecia ligero engrosamiento del tejido subcutáneo y focos de infiltrado inflamatorio rodeando fibras musculares (Hematoxilina-Eosina, X55).

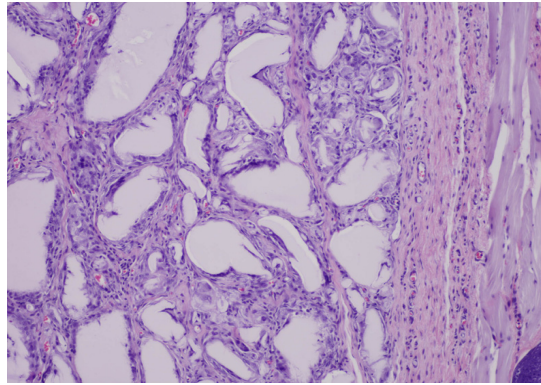


Fig. 9.11.- Agarosa, 1 mes: Existen bandas de colágeno neoformado y un infiltrado celular denso constituido principalmente por fibroblastos y macrófagos. (Hematoxilina-Eosina, X95).

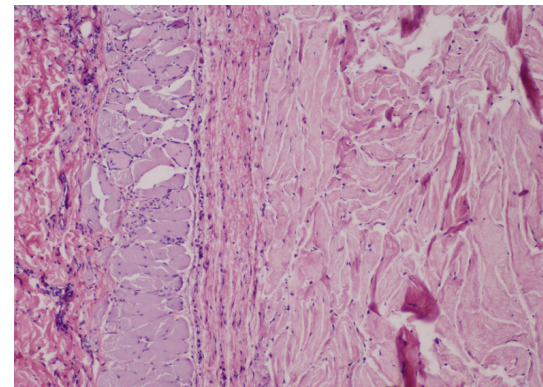


Fig. 9.12.- Colágeno 1 mes: El material se ve como una masa de aspecto homogéneo y escaso infiltrado celular. (Hematoxilina-Eosina, X 110).

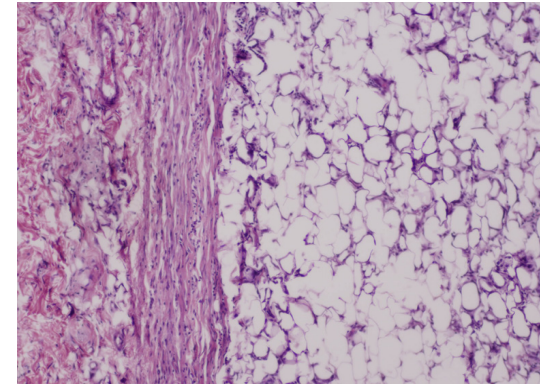


Fig. 9.13.- Grasa, 1 mes: El infiltrado inflamatorio disminuye notablemente con respecto a la supervivencia previa. Se aprecia un engrosamiento del tejido celular subcutáneo. (Hematoxilina-Eosina, X70).

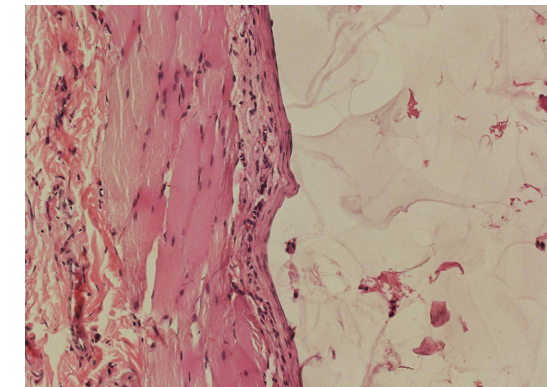


Fig. 9.14.- Perlane, 1 mes: Se aprecia la presencia de una cápsula integrada por 3 a 5 capas de colágeno denso. (Hematoxilina-Eosina, X55).

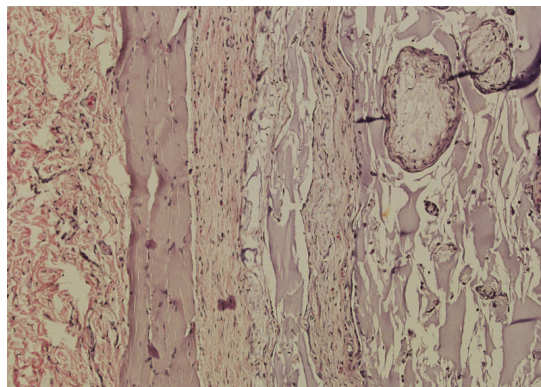


Fig. 9.15.- Aquamid, 1 mes: Presencia de bandas fibrosas y nódulos en el interior del implante, así como infiltración celular constituida por fibroblastos y macrófagos (Hematoxilina-Eosina, X55).

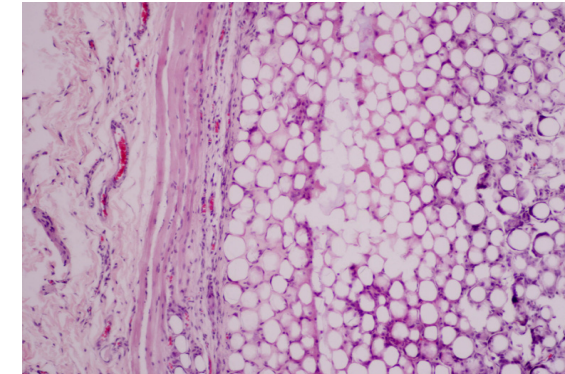


Fig. 9.16.- Artecoll, 1 mes: Dentro del implante existe una matriz de colágeno con macrófagos, fibroblastos y células gigantes. En la periferia se aprecia escasa reactividad y una cápsula periférica fina. (Hematoxilina-Eosina, X55).

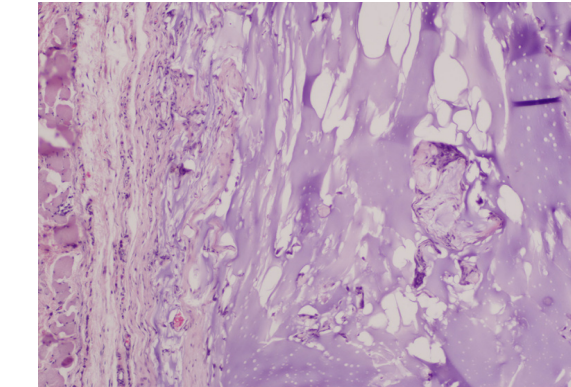


Fig. 9.17.- Bio-Alcamid, 1 mes: Escaso infiltrado celular con predominio de macrófagos y fibroblastos. Se aprecia la presencia de formaciones de aspecto modular que rodean fragmentos del producto. (Hematoxilina-Eosina, X55).

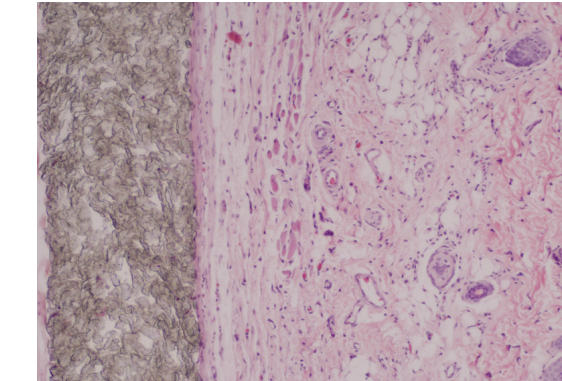


Fig. 9.18.- Gore-Tex, 1 mes: Se forma una cápsula fibrosa fina alrededor del implante, con presencia de macrófagos y células gigantes en la periferia. En el interior del implante existe un infiltrado inflamatorio leve. (Hematoxilina-Eosina, X70).

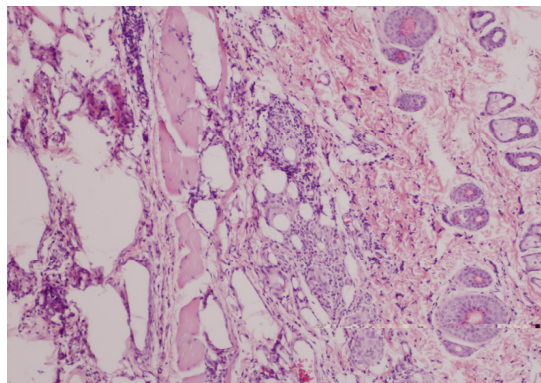


Fig. 9.19.- Silicona, 1 mes: Se observa gran difusión del producto por todas las capas de la piel con destrucción de la misma. Intenso infiltrado inflamatorio de tipo macrofágico y presencia de células gigantes. (Hematoxilina-

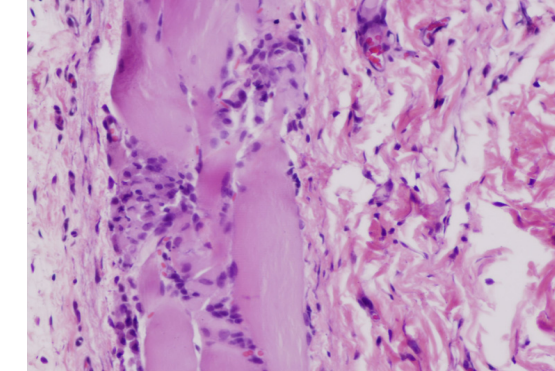


Fig. 9.20.- Hyaluderm, 1 mes: Foco de necrosis activa muscular con gran infiltrado de células mononucleares. (Hematoxilina-Eosina, X120).

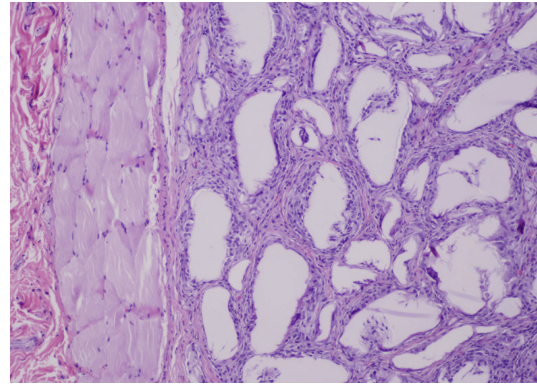


Fig. 9.21.- Agarosa, 4 meses: La matriz de colágeno dentro del implante es más densa, con disminución del producto. Infiltrado celular denso con fibroblastos, macrófagos y células gigantes. (Hematoxilina-Eosina, X120).

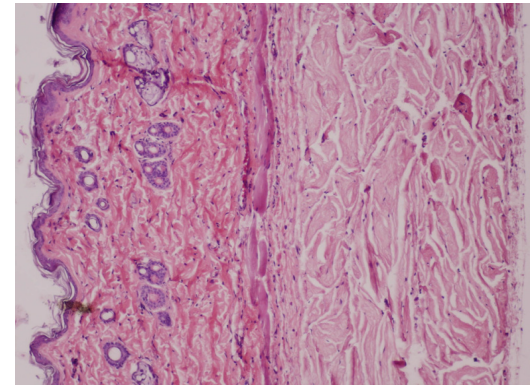


Fig. 9.22.- Colágeno, 4 meses: El implante aparece con una mayor densidad, persistiendo una infiltración celular mínima. (Hematoxilina-Eosina, X 110).

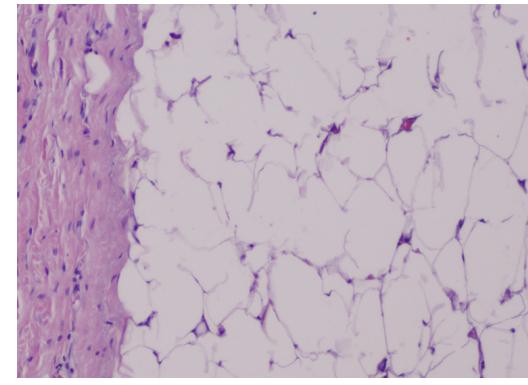


Fig. 9.23.- Grasa, 4 meses: El recuento de células mononucleares corresponde en su totalidad a células de tipo adiposo. Existe un aumento de la vascularización dentro del implante. (Hematoxilina –Eosina, X120).

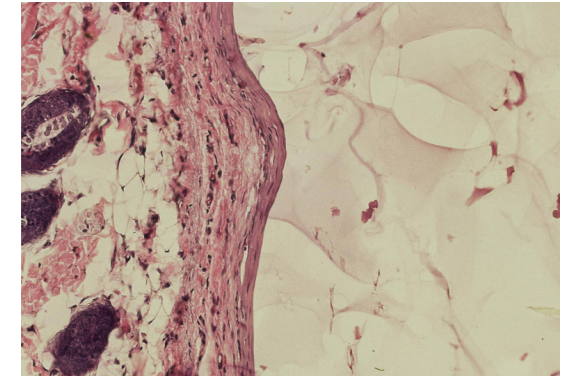


Fig. 9.24.- Perlane, 4 meses: Se observa un infiltrado celular mínimo dentro del implante y persistencia de una cápsula fibrosa fina. (Hematoxilina-Eosina, X110).

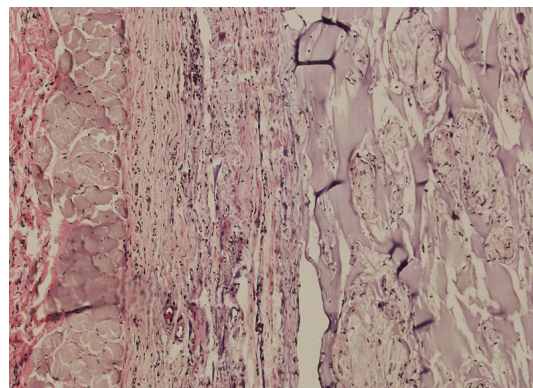


Fig. 9.25.- Aquamid, 4 meses: Se aprecia una cápsula bajo el tejido subcutáneo formada por varias capas de colágeno. También existe un infiltrado celular denso y formaciones fibrosas dentro del implante. (Hematoxilina-Eosina, X125).

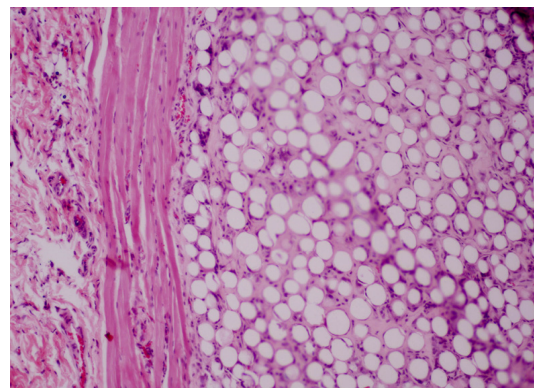


Fig. 9.26.- Artecoll, 4 meses: Existe atrofia del tejido subcutáneo. La matriz de colágeno entre las microesferas es de mayor grosor y contiene colágeno denso. El infiltrado está constituido por histiocitos y células gigantes. (Hematoxilina-Eosina, X55).

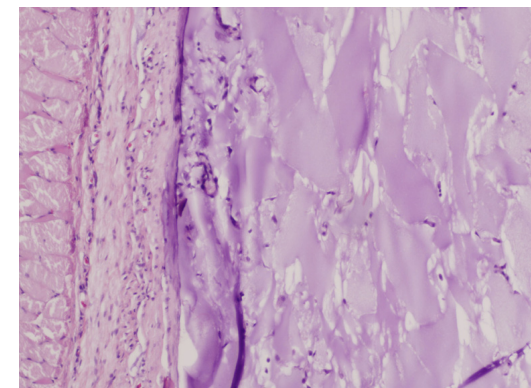


Fig. 9.27.- Bio-Alcamid, 4 meses: Dentro del implante se observa escaso infiltrado celular y ausencia de capilares. En la periferia se aprecia la formación de cápsula fibrosa de grosor moderado. (Hematoxilina-Eosina, X70).

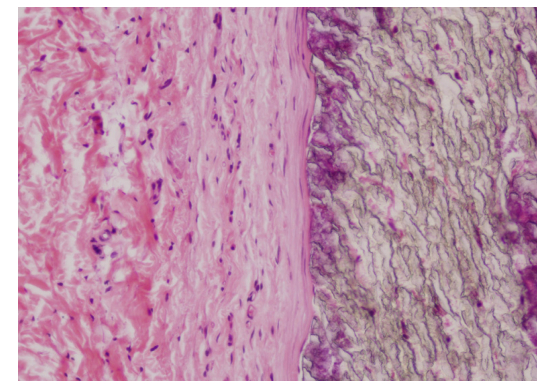


Fig. 9.28.- Gore-Tex, 4 meses: Aumento del grosor de la cápsula con histiocitos y células gigantes alrededor del producto. Se aprecia un mayor infiltrado celular dentro del implante con incremento del tejido conectivo en su interior. (Hematoxilina-Eosina, X130).

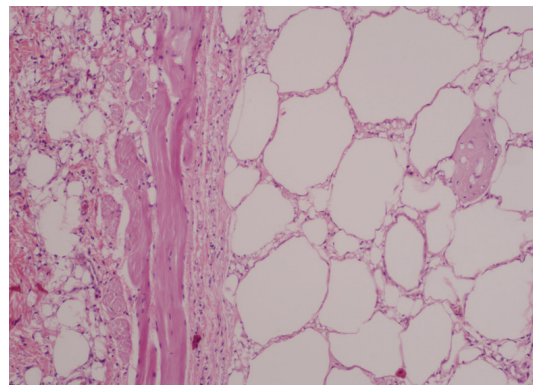


Fig. 9.29.- Silicona, 4 meses: Notable disminución del tejido celular subcutáneo. En el implante existe aumento del tejido fibroso perilacunar, presencia de algunos nódulos fibrosos, y aumento de la vascularización y del infiltrado inflamatorio. (Hematoxilina-Eosina, X120).

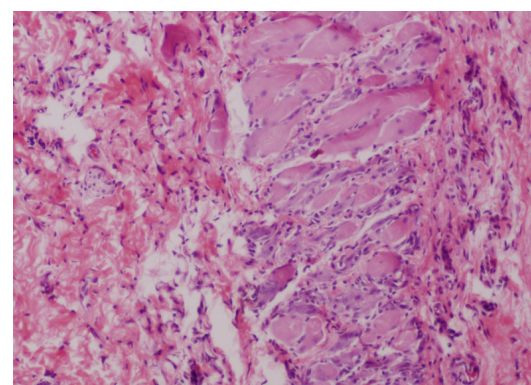


Fig. 9.30.- Hyaluderm, 4 meses: Persisten y se intensifican los cambios degenerativos a nivel muscular, con presencia de zonas de regeneración. (Hematoxilina-Eosina, X110).

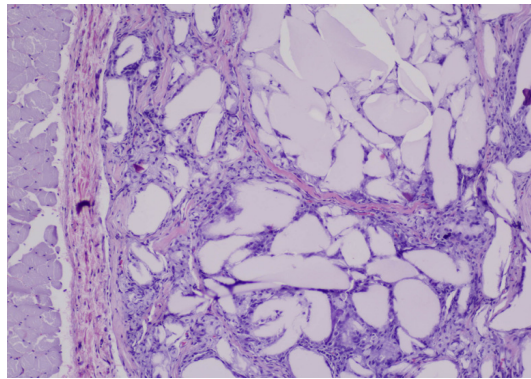


Fig. 9.31.- Agarosa, 8 meses: Existen bandas de colágeno denso en el interior del implante con presencia de nódulos. (Hematoxilina-Eosina, X70).

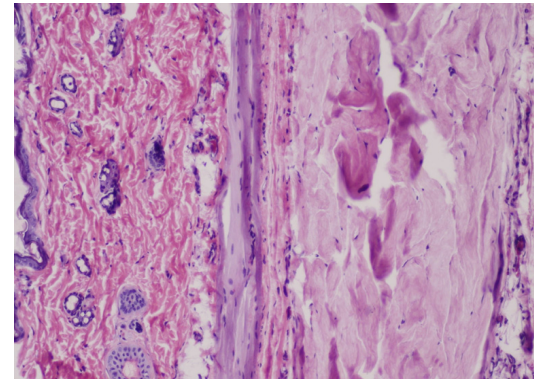


Fig. 9.32.- Colágeno, 8 meses: Reacción inflamatoria mínima con escasos fibroblastos e histiocitos, sin presencia de células gigantes. (Hematoxilina-Eosina, X110).

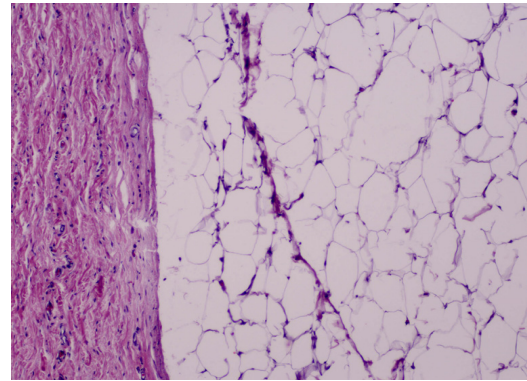


Fig. 9.33.- Grasa, 8 meses: El implante tiene las características de un tejido adiposo normal. Se observa un engrosamiento del tejido celular subcutáneo alrededor del implante. (Hematoxilina-Eosina, X125).

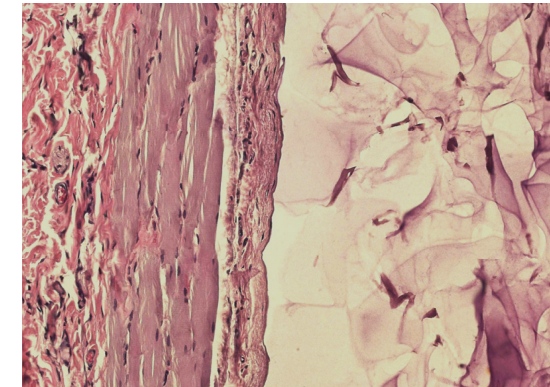


Fig. 9.34.- Perlane, 8 meses: Cápsula fibrosa fina y ausencia de reacción inflamatoria crónica. (Hematoxilina-Eosina, X120).

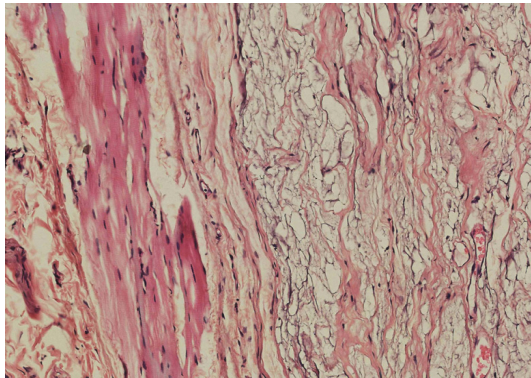


Fig. 9.35.- Aquamid, 8 meses: Ausencia de cápsula definida e invasión fibrosa del implante con colágeno maduro. Predomina el infiltrado de histiocitos y fibroblastos. (Hematoxilina-Eosina, X110).

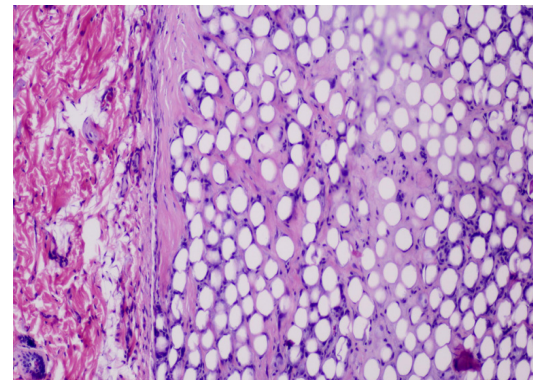


Fig. 9.36.- Artecoll, 8 meses: Cápsula periférica fina, con atrofia del tejido subcutáneo. Se observa importante fibrosis dentro del implante con bandas de colágeno entre las microesferas. Persisten los histiocitos y las células gigantes. (Hematoxilina-Eosina, X120).

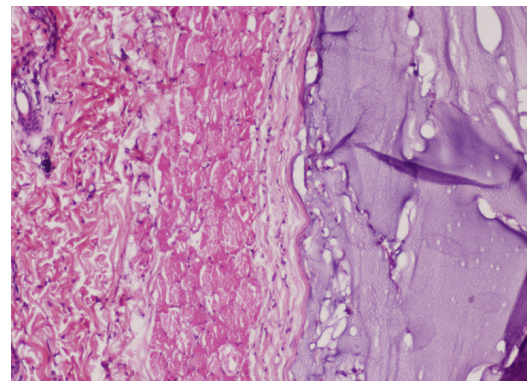


Fig. 9.37.- Bio-Alcamid, 8 meses: Persiste un infiltrado celular bajo dentro del implante. En la periferia la cápsula mantiene su grosor y existe atrofia el tejido celular subcutáneo. (Hematoxilina-Eosina, X 70).

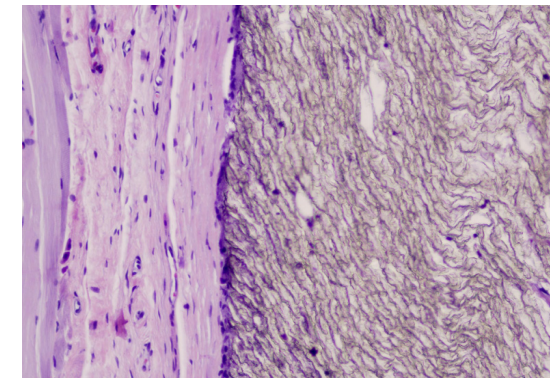


Fig. 9.38.- Gore-Tex, 8 meses: Aumento del grosor del tejido subcutáneo y disminución de la cápsula. El infiltrado dentro del implante es leve sin modificaciones con respecto a períodos previos. (Hematoxilina-Eosina. X70).

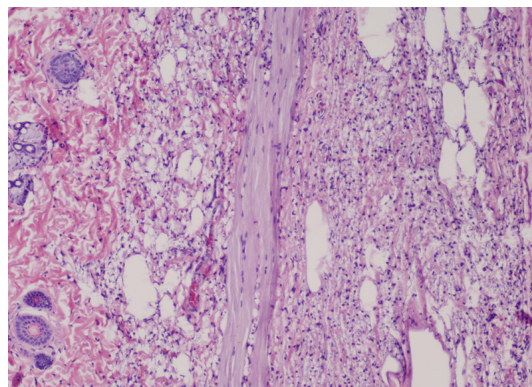


Fig. 9.39.- Silicona, 8 meses: Intenso infiltrado celular de histiocitos y células gigantes, con aumento de la fibrosis y la vascularización en el implante. Desestructuración de la arquitectura normal de la piel. (Hematoxilina-Eosina, X70).

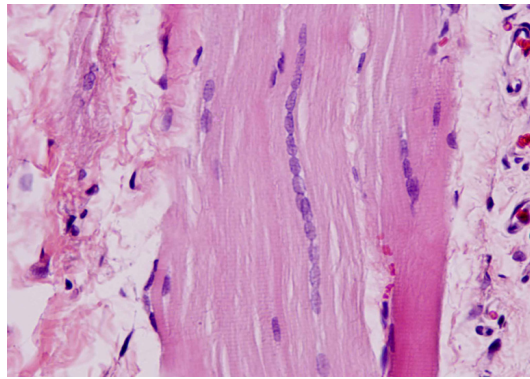
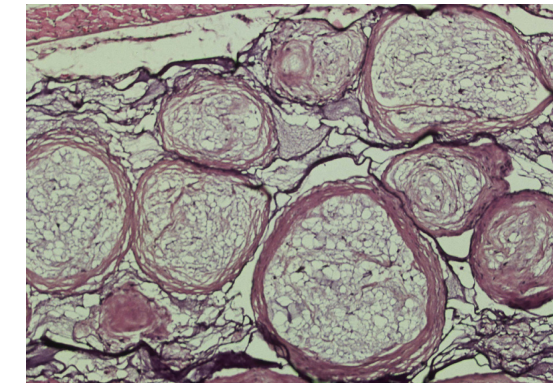
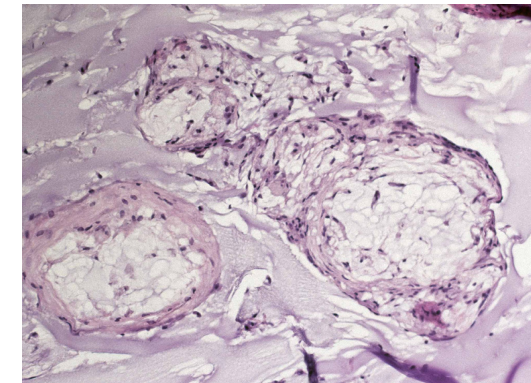
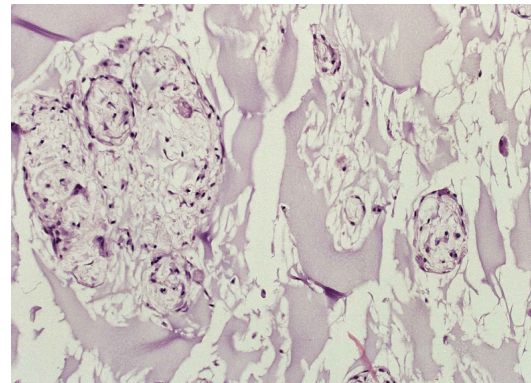


Fig. 9.40.- Hyaluderm, 4 meses: Presencia de núcleos localizados centralmente en fibras de aspecto ligeramente basófilo, propio de un proceso de regeneración muscular (Hematoxilina-Eosina, X120).



Figs. 9.41a, 41b, 41c (de izquierda a derecha): Desarrollo y evolución de los nódulos fibrosos en el interior de los implantes de Aquamid a lo largo del tiempo (9.41.a- 1 mes; 41.b-4 meses y 41.c-8 meses). Las imágenes corresponden a secciones transversales de las bandas fibrosas presentes en el interior del implante. (Hematoxilina-eosina, X95 en 41a, X75 en 41b, X45 en 41c).

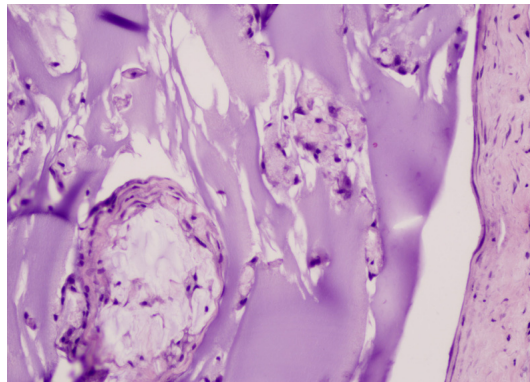


Fig. 9.42.- Bio-Alcamid, 4 meses: Presencia de acúmulos celulares de aspecto nodular, englobando fragmentos de material. (Hematoxilina-Eosina, X70).

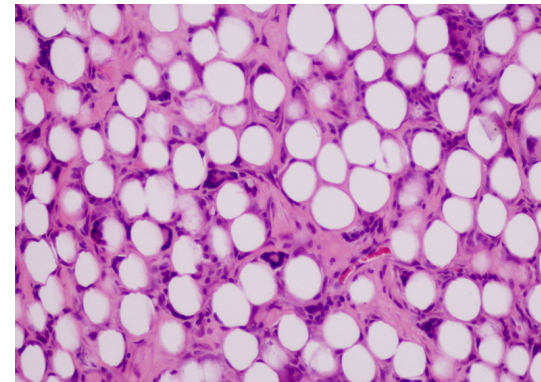


Fig. 9.43.- Artecoll, 3 meses: Existen bandas de colágeno estructurado con aumento de la separación entre las microesferas. (Hematoxilina-Eosina, X140).

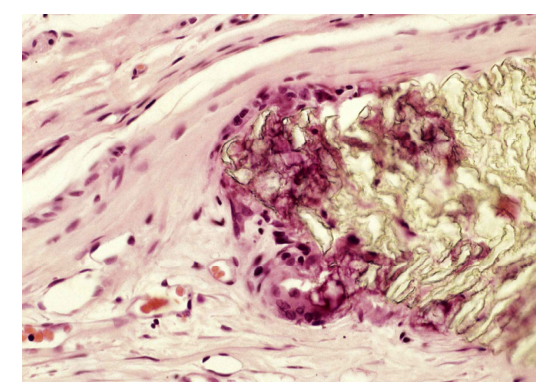


Fig. 9.44.- Gore-Tex, 3 meses: Fragmentación del material de relleno en uno de los extremos. Se aprecia el intenso infiltrado histiocítico y la presencia de células gigantes. (Hematoxilina-Eosina, X290).

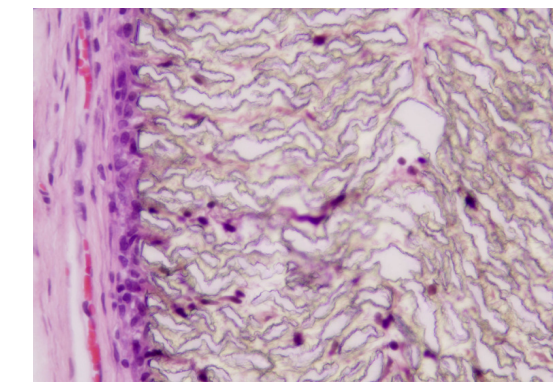


Fig. 9.45.- Gore-Tex, 3 meses: Detalle de la infiltración del material por células mononucleares a través de los espacios internodales del Gore-Tex y células gigantes de cuerpo extraño en su superficie. (Hematoxilina-Eosina, X270).

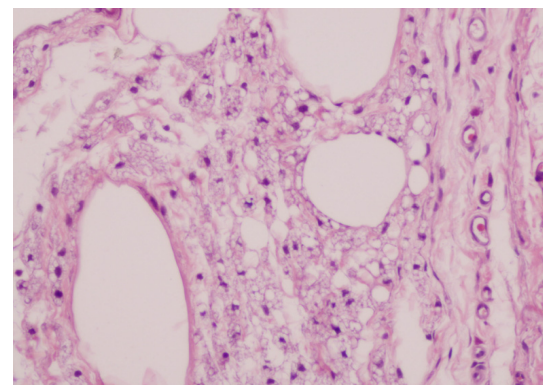


Fig. 9.46.- Silicona, 1 mes: Los histiocitos, entre los espacios ocupados por el material de relleno, presentan gran cantidad de vacuolas intracitoplasmáticas de fagocitosis. (Hematoxilina-Eosina, X235).

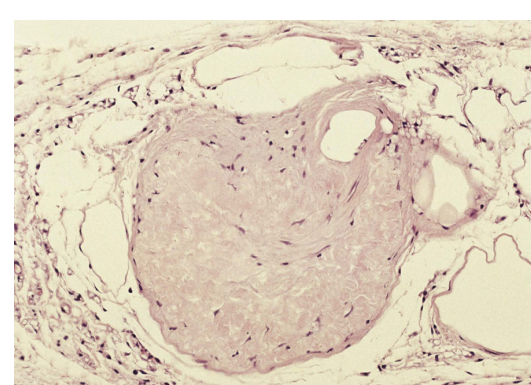


Fig. 9.47.- Silicona, 8 meses: En ocasiones se observan grandes granulomas o nódulos fibrosos en el interior de los implantes (H-E, 135X).